

Aus dem Botanischen Institut der Universität Freiburg i. Br.

DIE CHROMOSOMENSTRUKTUR
IN DER MEIOTISCHEN PROPHASE EINIGER COMPOSITEN*

Von

CHRISTA SCHERZ

Mit 10 Textabbildungen

(Eingegangen am 18. Oktober 1956)

A. Einleitung

Die Frage nach der Chromosomenstruktur und ihren Veränderungen während der Meiosis ist neuerdings in einer Reihe von Untersuchungen eingehender bearbeitet worden. Dabei stellte es sich heraus, wie weit die Auffassungen vor allem über die Natur der Chromomeren auseinandergehen und wie notwendig es ist, weiterhin neue experimentelle Befunde zur Lösung dieses Problems beizutragen. Die divergierenden Meinungen hat LINNERT (1955) kürzlich recht übersichtlich zusammengestellt. Sie gründen sich fast ausschließlich auf Beobachtungen am Pachytän, und es lag darum nahe, auch einmal die früheren Stadien vom Beginn des Leptotäns an auf diese Frage hin zu bearbeiten.

B. Material und Methode

Folgende Compositenarten wurden zur Untersuchung der frühen Meiosisstadien herangezogen: *Tragopogon dubius*, $n = 6$, *T. porrifolius*, $n = 6$, *T. pratensis*, $n = 6$, dazu vergleichsweise *Scorzonera hispanica*, $n = 7$ und *Laya elegans*, $n = 7$. Die Knospen wurden zu Quetschpräparaten verarbeitet 1. nach der üblichen Eisenkarminmethode (Fixierung: Alkohol-Eisessig 3:1; Färbung: 2,5%iges Essigsäure-Karmin + FeCl_3), 2. nach simultaner Fixierung und Färbung in einer Lösung von 0,5%igem Orcein in Alkohol-Eisessig 3:1 (EBERLE, nach mündlicher Mitteilung). Mit Orcein werden die Chromosomen nur relativ schwach, ihre feinsten Strukturen dafür aber recht differenziert gefärbt. — Die Karminpräparate wurden mit dem Standardmikroskop (komplett) von Zeiss-Winkel (Leihgabe der Deutschen Forschungsgemeinschaft), die Orceinpräparate mit der Phasenkontrasteinrichtung von Zeiss-Winkel untersucht. Die Mikrophotographien sind mit der Horizontal-Vertikal-Kamera von Zeiss aufgenommen worden.

* Auszug aus einer Dissertation der Naturwissenschaftlich-mathematischen Fakultät der Universität Freiburg i. Br. — Die Anregung zu dieser Arbeit gab mir Herr Professor Dr. FRIEDRICH OEHLKERS. Für seine ständige Hilfsbereitschaft danke ich ihm herzlich, ebenso Herrn Dr. P. EBERLE für zahlreiche Ratschläge. Der Deutschen Forschungsgemeinschaft, die mir ein Mikroskop zur Verfügung stellte, vor allem auch dem Evangelischen Studienwerk, Haus Villigst, dessen Stipendium mein Studium und diese Arbeit ermöglichte, bin ich zu großem Dank verpflichtet.

C. Empirischer Teil

1. Prämeiotische Ruhekerne und Beginn der meiotischen Prophase

Die drei *Tragopogon*-Arten haben partiell heterochromatische Genome, die sich im Grad ihrer Heterochromasie nur wenig unterscheiden. Offensichtlich besitzt *Tragopogon dubius* am meisten, *T. porrifolius* etwas weniger und *T. pratensis* am wenigsten Heterochromatin. In der Telo-phase der letzten prämeiotischen Mitose entspiralisieren sich außer den distalen euchromatischen Chromosomenabschnitten auch die proximalen,

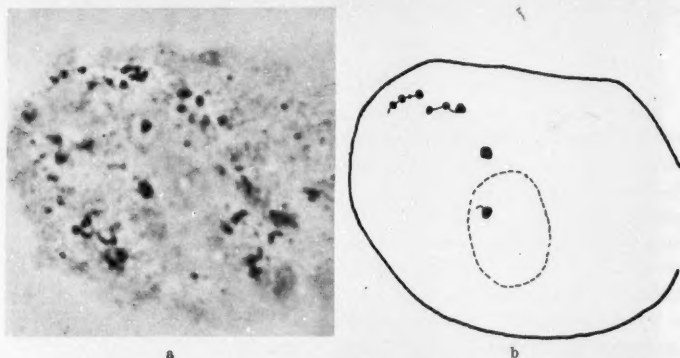


Abb. 1a u. b. Makrochromomeren im Interphasekern von *Tragopogon porrifolius*.
Orcel, 2000:1

vorwiegend heterochromatischen. Bei *Tragopogon* finden sich daher in den Interphasekernen keine Chromozentren, sondern statt dessen zahlreiche feine Fäden, die das Heterochromatin in kleinen, im Präparat tief-schwarz gefärbten, chromomerenförmigen Portionen tragen, welche als Makrochromomeren bezeichnet werden (Abb. 1a und b).

Häufig ließ sich auch in völlig unverletzten Kernen eine räumliche Annäherung von zwei Fäden mit homologem Chromomerenmuster beobachten. Diese führt schließlich dazu, daß erst einzelne und dann mehrere homologe Chromomeren paarweise zu einer Einheit verschmelzen. Offensichtlich beginnen hier die heterochromatischen Chromosomenstücke schon vor dem eigentlichen Leptotän sich zu paaren. Bei einigen Fäden kann diese Paarung recht bald abgeschlossen sein, bei den meisten aber zieht sie sich bis in das Leptotän hinein und ist erst im frühen Zygotän beendet. — Noch während sich die Chromosomenfäden paaren, fangen einzelne an, sich aufzuspiralisieren. Im Mikroskop sieht man sie deutlich als eine Zickzacklinie. Die Chromomeren sitzen häufig in den Umkehrpunkten einer solchen lockeren Spirale (Abb. 2a und b). — Es

fällt nun auf, daß diese Chromomeren häufig größer sind als vor der Spiralisierung. Sie sind nicht mehr bloße Punkte in den Ecken einer

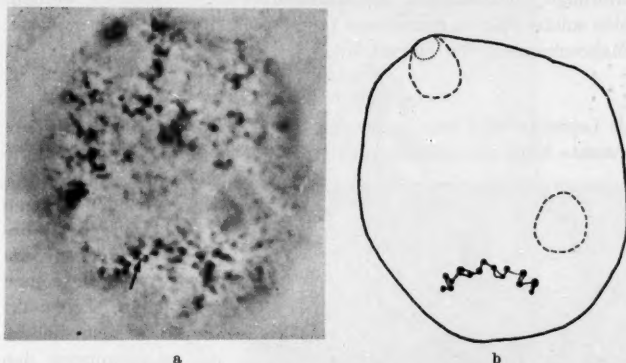


Abb. 2 a u b. Beginnende Spiralisierung eines heterochromatischen Fadens zu Anfang der frühen meiotischen Prophase von *Tragopogon pratensis*; in der Spirale noch beide Faden einzeln sichtbar (↑). Orcein, 2000:1

Zickzacklinie, sondern erstrecken sich ein Stück weit über den Chromosomenfaden auf die nächste Ecke zu (Abb. 3). — Mit fortschreitender Paarung und Spiralisierung werden die heterochromatischen Abschnitte in zunehmendem Maße fixierunslabil. Bis zum frühen Pachytän einschließlich liegen sie als nur wenig strukturierte kompakte Blöcke im Kern.

Außer diesem Formwechsel des Heterochromatins kennzeichnet noch eine weitere Veränderung den Beginn der meiotischen Prophase: Aus dem dichten Gewirr von Fäden, das neben den heterochromatischen Anteilen den Interphasekern als eine mehr oder weniger einheitliche Masse erfüllte, gewinnen nun einzelne Gestalt. Besonders leicht sind sie an der Peripherie der Kerne als weitgehend gestreckte, ungepaarte Chromosomen zu beobachten. Sie sind also entgegen den mehr heterochromatischen Chromosomenabschnitten in diesem Stadium noch nicht gepaart und spiralisiert. Daran und an ihrer geringeren Färbbarkeit kann man

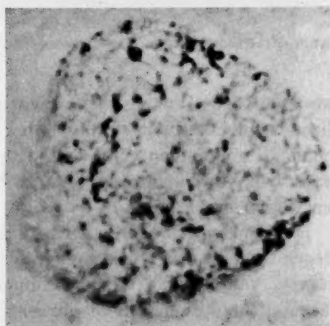


Abb. 3. Wachstum der Makrochromomeren zu Beginn der meiotischen Prophase von *Tragopogon porrifolius*. Orcein, 2000:1

diese Fäden bereits jetzt als die euchromatischen Chromosomenenden erkennen. — Auch sie tragen zahlreiche kleine, schwach gefärbte chromomerenförmige Verdickungen, die Mikrochromomeren genannt werden. Einzelne solche Mikrochromomeren fanden sich zuweilen auch zwischen den Makrochromomeren eingestreut.

2. Leptotän und Zygotän

Als Leptotän wird im allgemeinen das Stadium bezeichnet, in dem der gesamte Kern ein auffallend fädiges Aussehen besitzt, weil auch die

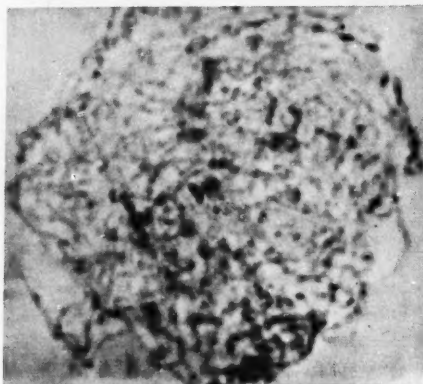


Abb. 4. Frühes Leptotän von *Tragopogon pratensis*.
Orcein, 2000:1

euchromatischen Chromosomenenden sich nun völlig herausgebildet haben. Bei *Tragopogon* liegen die Chromosomen zu diesem Zeitpunkt noch in einem dichten Knäuel zusammen, den man im Gegensatz zu früheren Stadien als Ganzes aus dem Kern herausquetschen kann (Abb. 4). Das proximale Heterochromatin liegt in kompakten Blöcken im Innern dieses Knäuels. Also müssen einzelne herausragende Chro-

mosomenstücke den distalen euchromatischen Enden zugehören. Ihre Chromosomenabschnitte sind derber als zuvor, deutlich gestreckt und tragen Chromomeren. Sie sind jedoch im Leptotän größer und tiefer gefärbt als vorher und gleichen im Extremfall den Makrochromomeren der Interphasekerne.

Das folgende Zygotän wird dadurch gekennzeichnet, daß die vorwiegend euchromatischen, mehr distalen Chromosomenabschnitte sich paaren, während die mittelständigen, stark heterochromatischen ihre Paarung im wesentlichen vollzogen haben (Abb. 5). Zugleich läßt sich auch für die euchromatischen Fäden nachweisen, daß schon während der Paarung ihre Spiralisierung beginnt, wie es auch für das Heterochromatin beschrieben wurde.

3. Pachytän

Auch während des frühen Pachytäns sind die Chromosomen noch weitgehend verknäuel. In manchen Kernen kann man 6 heterochromatische Mittelsegmente zählen, die jedoch nur im späten Pachytän in

dieser Weise vorhanden sind (Abb. 6). Hier sitzt der größte Teil des Heterochromatins zu beiden Seiten der Insertionsstelle in einem dichten

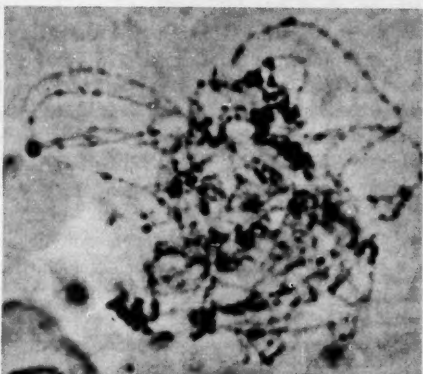


Abb. 5. Übergang vom Leptotän zum Zygotän; das proximale Heterochromatin in zunehmendem Maße fixierungslabil; *Tragopogon porrifolius*. Orcein, 2000:1

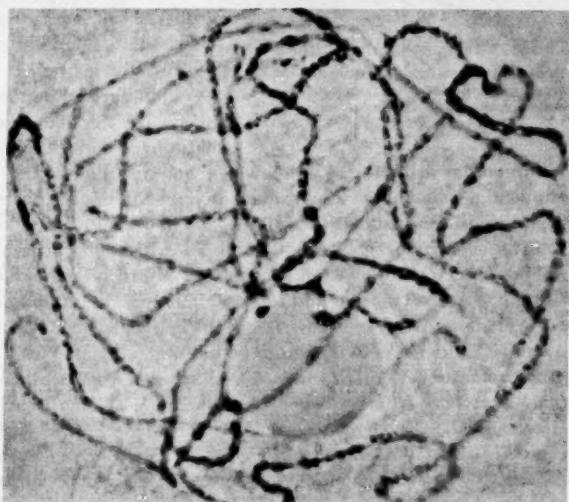


Abb. 6. Spätes Pachytän von *Tragopogon porrifolius*. Orcein, 1600:1

Block zusammen. Dagegen ist es noch im mittleren Pachytän von vielen euchromatischen Zwischenstücken stark aufgelockert. Man kann deshalb in diesen frühen Stadien noch nicht von heterochromatischen Mittel-

segmenten sprechen, da über die ganze Chromosomenlänge hin bis zu den Endchromomeren heterochromatische Anteile zu finden sind. Die proximalen Abschnitte der Pachytänchromosomen enthalten viel Heterochromatin und weniger dazwischengelagertes Euchromatin. Dieses Verhältnis kehrt sich in den weiter distal gelegenen Partien um.

Die Spiralisierung der Chromosomen, deren Anfang während ihrer Paarung beobachtet werden konnte, ist im Pachytän fortgeschritten. Heterochromatin wie Euchromatin sind zu einer durchgehenden, gleich breiten Spirale aufgewunden. Folglich lassen sich bei Trago-

pogon die heterochromatischen und euchromatischen Anteile nicht durch einen verschiedenen Spiralquerschnitt charakterisieren. Die wesentlichen Unterschiede sind vielmehr im spiralisierten Chromonema zu suchen, in seinem Durchmesser und in seiner Anfärbbarkeit. Es ist nämlich in den heterochromatischen Spiralwindungen viel breiter und dazu dunkler gefärbt als in den euchromatischen.

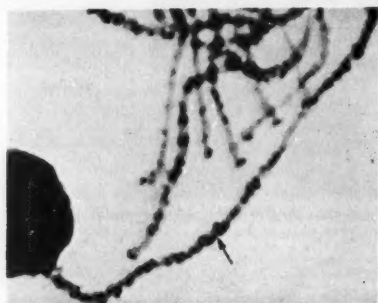


Abb. 7. Nukleolenchromosom im späten Pachytän von *Tragopogon pratensis*; bei ↑ spiralisierte, heterochromatische Chromomeren.
Karmün, 2000:1

Die Chromosomenspirale ist nun in den heterochromatischen Abschnitten nicht gleichmäßig verdickt; auch wenn mehrere heterochromatische Spiralwindungen aufeinanderfolgen, sind sie meist durch kurze, wenig gefärbte Fadenstücke getrennt (Abb. 7). Es sei daran erinnert, daß sowohl die Makrochromomeren als auch die Mikrochromomeren der frühen Prophase größer werden und teilweise miteinander verschmelzen konnten. Auf diese Weise können sie zu solchen länglichen Gebilden werden, wie sie in den Pachytänchromosomen mit aufspiralisiert sind. Die heterochromatischen Spiralwindungen sind also offensichtlich aus den Chromomeren der frühen Prophase entstanden. — Auch in anderer Weise lassen sich die Chromomeren im Pachytän wiederfinden. Werden die Kerne beim Herstellen eines Präparates nur schwach gequetscht, so sind die Chromosomen ziemlich dicht spiralisiert. Will man die einzelnen Chromosomen aber isolieren, so muß man in Kauf nehmen, daß sie dabei überzerrt werden. Im Extremfall sind sie so gedehnt, daß die Spirale gänzlich verschwunden ist, was zugleich ein Beweis für die Spiralstruktur der Pachytänchromosomen ist. Das so gestreckte Chromosom zeigt stellenweise längliche Verdickungen, die zweifellos den ursprünglichen

Chromomeren entsprechen. — Noch ein weiteres Argument spricht dafür, daß auch im Pachytän das Heterochromatin mehr oder weniger chromomerenförmig angeordnet ist. Zuweilen sind kurze Stücke der Chromosomen unspiralisiert und zeigen beide Homologen deutlich getrennt. Auf ihnen sitzen dann häufig einander genau gegenüber zwei Chromomeren, die noch wie in der Interphase rund sind (Abb. 8). — Diese drei Beobachtungen deuten darauf hin, daß die Chromomeren der Interphase und des Leptotäns wohl in die spiralisierten Chromosomen des Pachytäns übernommen werden und dort teils unverändert als Knötchen, teils nach Größenzunahme als stellenweise verdickte Spirale wieder auftreten.



Abb. 8. Heterochromatische Chromomeren im frühen Pachytän von *Tragopogon dubius*. Orcein, 2000:1

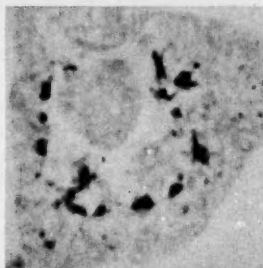


Abb. 9. Prämeiotischer Ruhekern mit Chromozentren von *Layia elegans*. Orcein, 2000:1

Ähnliche Chromosomenstrukturen wie bei *Tragopogon* konnten auch bei *Scorzonera hispanica* und *Layia elegans* beobachtet werden. — Bei *Scorzonera hispanica* stimmt die aufgelockerte Struktur der Interphasekerne völlig mit *Tragopogon* überein. Es ist lediglich etwas mehr Heterochromatin vorhanden, das sich in den Pachytänchromosomen in Mittelsegmenten konzentriert und zudem durch einen größeren Spiraldurchmesser von den euchromatischen Enden abhebt. — *Layia elegans* unterscheidet sich hingegen in ihren prämeiotischen Ruhekernen wesentlich von *Tragopogon*. Bei ihr entspiralisieren sich in der Telophase der letzten prämeiotischen Mitose nur die euchromatischen Chromosomenstücke, die heterochromatischen bleiben unverändert erhalten. Sie liegen als kleine, manchmal etwas verkleckste Chromozentren im Ruhekern, ungefähr in der diploiden Anzahl (Abb. 9). Zuweilen wird in ihnen eine Spirale sichtbar, die jedoch in der Regel unter der Matrix verborgen ist.

In gleicher Weise wie die Ruhekerne sind auch die Pachytänchromosomen von *Layia* durch ein erheblich kompakteres Heterochromatin von *Tragopogon* verschieden, das sich in Mittelsegmenten von den euchromatischen Enden absetzt (Abb. 10). Mikrochromomeren sind im

Euchromatin nicht mehr zu beobachten, jedoch haben im Vergleich zum Leptotän die Chromosomen an Dicke zugenommen. Auch bei *Layia* sind die Pachytänchromosomen stets spiralisiert.

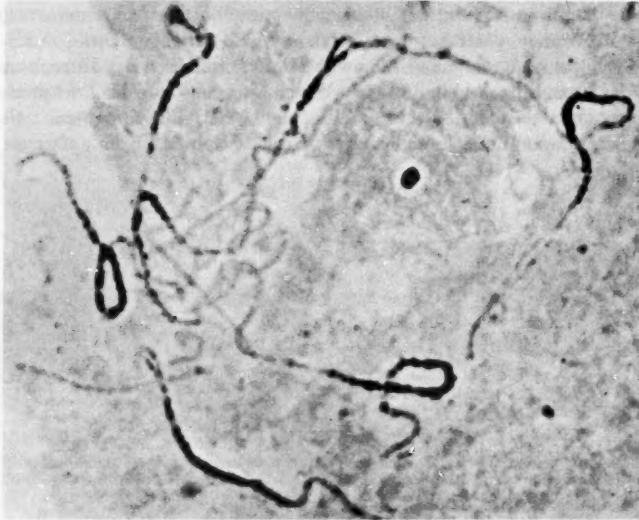


Abb. 10. Spätes Pachytän von *Layia elegans*. Orcein, 1600:1

D. Theoretischer Teil

Chromomeren als färbare Verdickungen der gestreckten „achromatischen“ Chromosomenfäden für die frühe meiotische Prophase beschreiben BELLING (1928, 1931), HUSKINS und SMITH (1935), MANTON (1935), BROWN (1954) u. a., für Mitosechromosomen ELLENHORN (1937), für die aufgelockerten Chromozentren des Zerstäubungsstadiums vor der Endomitose bei Pflanzen GETTLER (1938), GRAFL (1939, 1940), TSCHERMAK-WOESS und HASITSCHKA (1953), DOLEZAL und TSCHERMAK-WOESS (1955). Demgegenüber vertreten andere Autoren die Meinung, daß die Chromosomen in allen Stadien, auch bereits im Leptotän, spiralisiert und die Chromomeren lediglich als optische Querschnitte aufzufassen seien (KAUFMANN 1931, 1948; KOSHY 1937; NATHANY 1937; BHATIA 1938 u. a.).

Bei den Untersuchungen an *Tragopogon* war es nun möglich, das Ineinandergreifen von Spiralisation und Chromomerenstruktur zu verfolgen. Bereits auf den noch gestreckten Chromosomenfäden der Interphasekerne waren Chromomeren zu sehen, die aus zwei Gründen sicherlich nicht mit optischen Spiralquerschnitten verwechselt wurden. Einmal wurde während der Chromosomenpaarung die erste Anlage der Spirale beobachtet; zu diesem Zeitpunkt waren Chromomeren und Spiralen

nebeneinander vorhanden und voneinander zu unterscheiden. Zum andern konnte eine Größenzunahme der Chromomeren entlang den Chromosomen festgestellt werden, die sich noch nicht durch die Spiraltheorie erklären läßt. Zugleich zeigte sich jedoch, daß die Chromosomen von *Tragopogon* vom Pachytän an hoch spiralisiert sind. Trotzdem ließen sich auch auf diesen Chromosomen noch chromomerenartige Verdickungen nachweisen. Diese sind mit aufspiralisiert und liegen dementsprechend fast quer zur Chromosomenlängsachse.

In der Literatur werden von einigen Autoren zwei Arten von Chromomeren erwähnt: heterochromatische und euchromatische (GEITLER 1938, GRAFL 1940 u. a.). Sie lassen sich durch ihre Größe und Anfärbbarkeit und ihre Lage auf den entsprechenden Chromosomenabschnitten voneinander unterscheiden. Heterochromatische Chromosomenabschnitte lassen sich gegenüber euchromatischen durch die Dicke und stärkere Anfärbbarkeit, sowie einen anderen Spiralisations- und Paarungsrhythmus kennzeichnen (MARQUARDT 1937, OEHLKERS 1944, LINNERT 1949, SAUERLAND 1956 u. a.). Gerade ein verfrühter Paarungsbeginn des Heterochromatins ermöglichte gemeinsam mit den übrigen genannten Eigenschaften auch bei den Chromosomen von *Tragopogon* und *Layia* eine Unterscheidung von vorwiegend heterochromatischen und euchromatischen Chromosomenabschnitten. Ist nun eine entsprechende Unterscheidung auch bei den Chromomeren möglich? Die Makrochromomeren unter ihnen sind die einzigen stark färbbaren Anteile der proximalen heterochromatischen Chromosomenabschnitte; sie sind das eigentliche Heterochromatin auf den wenig gefärbten Chromosomen. Dieses festzustellen gelingt sowohl in der Interphase bzw. frühen Prophase, wenn sie noch Chromomerenform haben, als auch im Pachytän, wo sie in länglichen spiralisierten Portionen vorliegen, die stets mit wenig gefärbten Anteilen abwechseln. Die Makrochromomeren der heterochromatischen Abschnitte sind also zweifellos kleine Portionen von Heterochromatin. Man könnte nach dem Beispiel obengenannter Autoren die Mikrochromomeren, welche ja den mehr euchromatischen Chromosomenenden zugehören, als euchromatische Chromomeren bezeichnen. Dies ist jedoch hier bei *Tragopogon* nicht möglich. Vielmehr vergrößern sich diese Mikrochromomeren im Laufe der frühen meiotischen Prophase, so daß sie einmal im Zygotän fast die Größe der Interphasenmakrochromomeren erreichen, zum andern damit eindeutig als heterochromatische Strukturelemente erkannt werden. Die Mittelsegmente sind hier eben fast ausschließlich heterochromatisch und nur durch kleinere euchromatische Abschnitte unterbrochen. In den sogenannten „euchromatischen“ Chromosomenenden besteht das umgekehrte Verhältnis. Mit dieser Chromosomenstruktur ebenfalls verknüpft ist die frühere Paarung und stärkere Spiralisierung der proximalen Abschnitte. — Bei *Laya* ist die Verteilung

von Hetero- und Euchromatin wesentlich anders als bei den *Tragopogon*-Arten. Hier finden sich viel einheitlicher gefärbte euchromatische Enden, und das Heterochromatin ist besonders proximal gehäuft. Die auf den mehr euchromatischen Enden in der frühen meiotischen Prophase erkennbaren kleinen heterochromatischen Segmente sind wohl deshalb im Pachytän kaum mehr sichtbar, weil sie eine zu geringe Mächtigkeit besitzen, um in den stärker spiralisierten Pachytänchromosomen besonders aufzufallen. Sie bewirken jedoch höchstwahrscheinlich das dunkle Grau der „euchromatischen“ Chromosomenenden (s. OEHLKERS und EBERLE 1956).

Zusammenfassung

1. Es wurde an drei *Tragopogon*-Arten der Formwechsel der Chromosomen während der frühen Stadien der Meiosis untersucht. Vergleichsweise wurden *Scorzonera hispanica* und *Layia elegans* herangezogen.

2. In allen untersuchten Arten sind in gleicher Weise bereits vor dem Beginn des eigentlichen Leptotäns Chromomeren zu erkennen, die im Verlauf der Prophase an Größe zunehmen und schließlich im Pachytän als längliche Portionen das Chromosom stellenweise verdicken.

3. Es wurden auf den einzelnen Chromosomen deutlich quantitative Unterschiede in Größe und Anfärbbarkeit der Chromomeren festgestellt. Diese wurden als entsprechende Portionen von Heterochromatin aufgefaßt.

4. Neben der Chromomerenstruktur bestimmt das Ausmaß der Spiralisation das Aussehen der Chromosomen. Während sie anfänglich gerade gestreckte Fäden bilden, so beginnen sie sich während der Paarung im Zygotän zu spiralisieren. Die Pachytänchromosomen sind durchgehend aufspiralisiert, wobei die Chromomeren mit in die Spirale eingegangen sind.

Literatur

- BELLING, J.: The ultimate chromomeres of *Lilium* and *Aloe* with regard to the numbers of genes. Univ. California Publ. Bot. 14, 307—318 (1928). — Chromomeres of liliaceous plants. Univ. California Publ. Bot. 16, 153—170 (1931). — BHATIA, G. S.: Cytology and genetics of some Indian wheats. Ann. of Bot. 2, 335—372 (1938). — BROWN, S. W.: Mitosis and meiosis in *Luzula campestris* DC. Univ. California Publ. Bot. 27, 231—278 (1954). — DOLEZAL, R., u. E. TSCHERMAK-WOESS: Verhalten von Eu- und Heterochromatin und interphasisches Kernwachstum bei *Rhoeo discolor*. Vergleich von Mitose und Endomitose. Österr. bot. Z. 102, 158—185 (1955). — ELLENHORN, J.: The chromomeres as an indicator of the morphological properties of mitotic chromosomes. Bot. Inst. Acad. Sci. USSR. Moskau 6, 633—644 (1937). — GEITLER, L.: Über das Wachstum von Chromozentrenkernen und zweierlei Heterochromatin bei Blütenpflanzen. Z. Zellforsch. 28, 133—153 (1938). — GRAFL, J.: Kernwachstum durch Chromosomenvermehrung als regelmäßiger Vorgang bei den pflanzlichen Gewebedifferenzierungen. Chromosoma 1, 265—275 (1939). — Cytologische Untersuchungen an *Sauromatum guttatum*. Österr. bot. Z. 89, 81—118 (1940). — HUSKINS, C. L., and S. G. SMITH: Meiotic

chromosome structure in *Trillium erectum* L. Ann. of Bot. 49, 119—150 (1935). — KAUFMANN, B. P.: Chromonemata in somatic and meiotic mitoses. Americ. Naturalist 65, 280—282 (1931). — Chromosome structure in relation to the chromosome cycle. II. Bot. Review 14, 57—126 (1948). — KOSHY, T. K.: Number and behaviour of chromosomes in *Aloe litoralis*. Ann. of Bot. 1, 43—58 (1937). — LINNERT, G.: Untersuchungen über die Zytologie polyploider Pflanzen. II. Chromosoma 3, 399—417 (1949). — Die Struktur der Pachytänchromosomen in Euchromatin und Heterochromatin und ihre Auswirkung auf die Chiasmabildung bei *Salvia*-Arten. Chromosoma 7, 90—128 (1955). — MANTON, I.: Evidence on spiral structure and chromosome pairing in *Osmunda regalis* L. Philosophic. Trans. Roy. Soc. Lond., Ser. B 230, 179—216 (1939). — MARQUARDT, H.: Die Meiosis von *Oenothera* I. Z. Zellforsch. 27, 159—217 (1937). — NAITHANI, S.: Chromosome studies in *Hyacinthus orientalis* L. II. The meiotic chromosomes. Ann. of Bot. 1, 257—275 (1937). — OEHLKERS, F.: Zytologische und genetische Untersuchungen an *Streptocarpus*. Z. Bot. 39, 113—153 (1943/44). — OEHLKERS, F., u. P. EBERLE: Spiralen und Chromomeren in der Meiosis von *Bellevalia romana*. Chromosoma 8, 351—363 (1956). — SAUERLAND, H.: Quantitative Untersuchungen von Röntgeneffekten nach Bestrahlung verschiedener Meiosisstadien bei *Lilium candidum* L. Chromosoma 7, 627—654 (1956). — TSCHERMAK-WOESS, E., u. G. HASITSCHKA: Veränderungen der Kernstruktur während der Endomitose; rhythmisches Kernwachstum und verschiedenes Heterochromatin bei Angiospermen. Chromosoma 5, 574—614 (1953).

Dr. CHRISTA SCHERZ, Max-Planck-Institut für Meeresbiologie,
Wilhelmshaven, Anton-Dohrn-Weg

Aus dem Botanischen Institut der Universität Freiburg i. Br.

**SPIRALEN UND CHROMOMEREN IN DER FRÜHEN
MEIOTISCHEN PROPHASE VON PAEONIA TENUIFOLIA L.***

Von

PAUL EBERLE

Mit 8 Textabbildungen

(Eingegangen am 18. Oktober 1956)

A. Einleitung

Die Kenntnis der Stadien früher meiotischer Prophasen ist hinsichtlich der Chromosomenstruktur immer noch spärlich. Gründlichere Bearbeitung erfuhr die Meiosis gewöhnlich erst vom Pachytän an. Doch haben wir Grund zu der Annahme (vgl. OEHLKERS und EBERLE 1957), daß in den frühen Stadien der Schlüssel zum Verständnis der Vorgänge in den später folgenden zu finden sein wird. Es sollte also das Studium früher Prophasestadien, das infolge der bisher gebräuchlichen cytologischen Technik nicht zufriedenstellend zur Darstellung gebracht werden konnte, mit verbesserten Methoden weitere Aufschlüsse ergeben. Ganz besonders beachten wir dabei die Struktur des Chromosomenfadens hinsichtlich seiner Längsgliederung, sowie außerdem seine Spiralisierung und sodann das Phänomen der Chromosomenpaarung (vgl. auch LINNERT 1955, OEHLKERS und EBERLE 1957, SCHERZ 1956).

B. Material und Methode

Im Freiland kultivierte *Paeonia tenuifolia*-Pflanzen wurden als Material verwendet; die Antheren wurden frei präpariert und in gleicher Weise wie bei OEHLKERS und EBERLE (1956) simultan fixiert und gefärbt (0,5%ige Orcein-Lösung in Carnoy 3:1). Nach wenigen Stunden konnte die Untersuchung der ♂ Gonotokonten („PMZ“) mit der Phasenkontrast-Einrichtung (W-Stativ Zeiß-Opton) durchgeführt werden. Je kürzere Zeit hindurch die Fixierung und Färbung einwirkt, um so besser gelingt die Untersuchung. Sämtliche Aufnahmen wurden mit Platten auf dem großen Stativ von Zeiß hergestellt¹.

C. Empirischer Teil

Der prämeiotische Ruhekern von *Paeonia tenuifolia* ist durch eng gepackte und dennoch schwach spiralisierte Chromosomen gekennzeichnet, die eine deutliche Längsgliederung zeigen (Abb. 1a). An den

* Herrn Professor Dr. F. OEHLKERS danke ich für sein förderndes Interesse an der Arbeit und die Überlassung des Pflanzenmaterials.

¹ Das verwendete Mikroskop wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft zur Verfügung gestellt, wofür ich herzlich danke.

Chromosomen finden sich auffallend stark dunkel gefärbte und gleichzeitig dickere Segmente, welche mit dünneren schwächerer

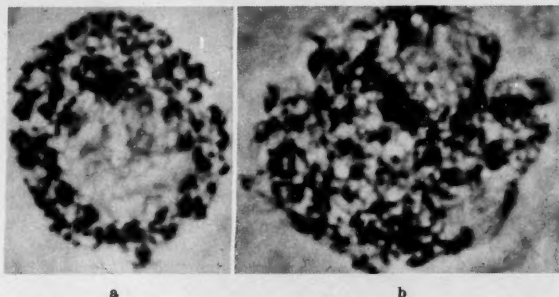


Abb. 1a u. b. Prämeiotischer Ruhekern (a) vor der Volumenzunahme. An vielen Stellen ist eine Gliederung der Chromosomen in dickere, dunkler färbbare und dünnere helle Segmente erkennbar. In b Beginn der meiotischen Prophase mit Volumenzunahme des Zellkerns und Streckung der Chromosomenspiralen (Orcein-Carnoy 3:1, Phako 2000:1)

Tinktion abwechseln. Die Verteilung der unterschiedlichen Chromatine erscheint über den gesamten Kernraum hinweg sehr gleichmäßig. Im Vergleich zu *Bellevalia* (OEHLEKERS und EBERLE 1957) ist die Anfärbbarkeit wesentlich stärker.

Der Beginn der meiotischen Prophase ist durch eine Volumenzunahme des Kerns sowie eine Auflockerung und Entspiralisierung der Chromosomen gekennzeichnet (Abb. 1b und 2); gleichzeitig lassen sich die Kerne von diesem Stadium an flachdrücken. Gewiß wird damit ein exakter Vergleich der Kernvolumina unmöglich gemacht; doch ergibt sich dabei zugleich der wesentliche Vorteil, daß die

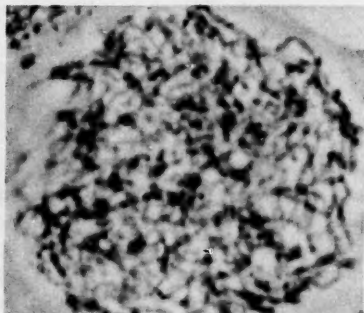


Abb. 2. Kern kurz vor dem Leptotän. Es sind noch Restspiralen erkennbar (Orcein-Carnoy 3:1, Phako 2000:1)

Chromosomen als solche einem Studium zugänglicher werden. Abb. 2 läßt erkennen, daß die starke Anfärbbarkeit der dunklen Segmente des Ruhekerns (Abb. 1) durch die Spiralisierung zum Teil vorgetäuscht wird, in Wirklichkeit aber jedenfalls schwächer als im Leptotän ist. So wird in Abb. 2 im Vergleich zu Abb. 1 der Eindruck einer „Dekondensation“ der dunkleren Segmente erweckt, bedingt durch die Entspira-

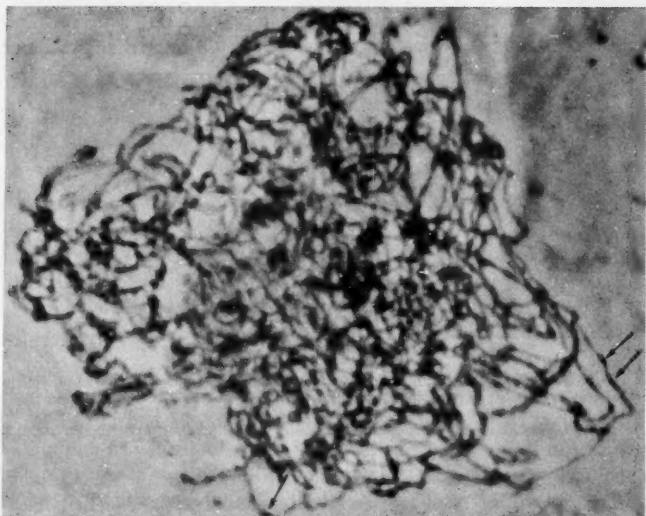


Abb. 3. Leptotänkern. Chromosomen maximal gestreckt. Längsgliederung der Chromosomen deutlicher als im Ruhekern (Orcein-Carnoy 3:1, Phako 2000:1)

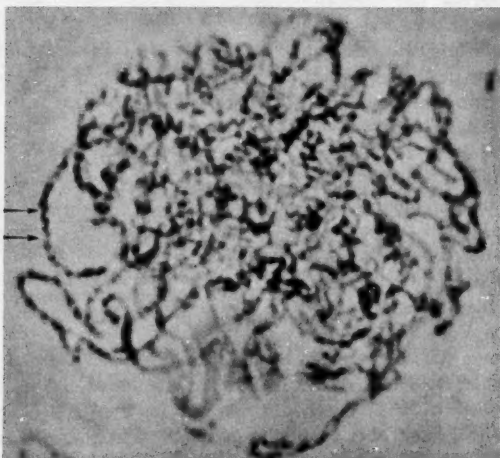


Abb. 4. Im Laufe des Leptotäns beginnt die meiotische Spiralsation mit einer feinen Wellung der Chromosomen (Orcein-Carnoy 3:1, Phako 2000:1)

lisierung und damit parallel gehenden Aufhebung gewisser optischer Täuschungseffekte.

Die im Bildrande von Abb. 3, einem frühen Leptotän liegenden Chromosomen lassen starke Strukturunterschiede erkennen, wie sie oben schon für den Ruhekern mit spiralisierten Chromosomen angegeben wurden. Bei den weiter innenwärts im Kern liegenden Chromosomen sind die dunklen Segmente besonders stark ausgeprägt. Die Gesamtfärbbarkeit gegenüber den bisher beschriebenen Stadien hat im Leptotän merklich zugenommen. Im späten Leptotän (Abb. 4) erscheint die



Abb. 5a u. b. Zygotän. Paarung der Chromosomen im spiralisierten Zustande. a Weitgehend gepaarte Chromosomen. In b sind die Spiralen durch die Präparation gedehnt worden; die Längsgliederung der Chromosomen ist erkennbar, ebenso das teilweise Umwinden derselben (Orcein-Carnoy 3:1, Phako 2000:1)

meiotische Spiralisation im optischen Bild als eine feine Wellung der Chromosomen, welche sichtlich gleichmäßig unter Bevorzugung der stärker färbbaren Segmente einsetzt. Diese Spiralisation steigert sich laufend, erreicht jedoch bis zu Beginn des Zygotäns keineswegs jenen Grad, wie er sich bei *Bellevalia* findet (OEHLKERS und EBERLE 1957). Der Paarung der spiralisierten Chromosomen im Zygotän (Abb. 5) geht eine Umschlingung der Homologen parallel, die sich in Abb. 5b besonders an den präparativ gestreckten Chromosomen anschaulich machen läßt. Solange die Spiralen noch einen geringen Durchmesser haben, erscheinen insbesondere die in die Spiralen einbezogenen dunklen und stärkeren Segmente, sofern sie kurz genug sind, als mehr oder weniger runde Gebilde (vgl. *Bellevalia* in OEHLKERS und EBERLE 1957) (Abb. 5a). Die schwächer färbbaren Chromosomensegmente werden nun ebenfalls in die Spiralen einbezogen.

Mit Vollendung der Paarung ist das Stadium des Pachytäns erreicht (Abb. 6). Die Spiralisation hat sich weiterhin intensiviert, zugleich ist eine Zunahme des Spiraldurchmessers und eine Abnahme der Ganghöhe zu bemerken, so daß die Chromosomenpaare scheinbar dicker werden und

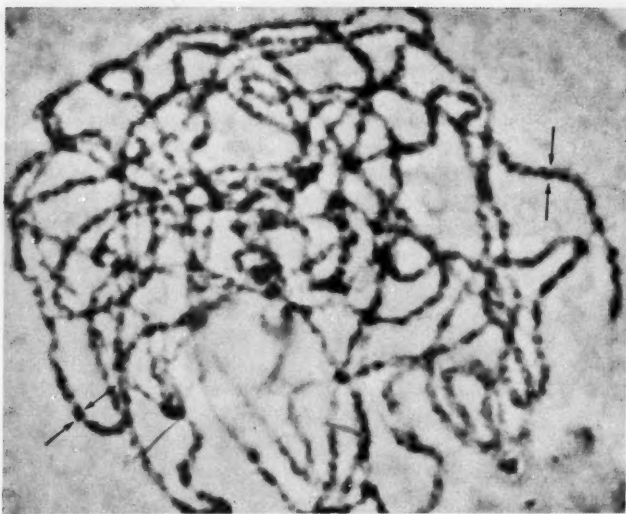


Abb. 6. Pachytän. Gleichmäßige Spiralisierung der dunklen und hellen Segmente. Erstere vielfach kugelig, wenn es sich um kürzere Stücke handelt (Orcein-Carnoy 3:1, Phako 2000:1)

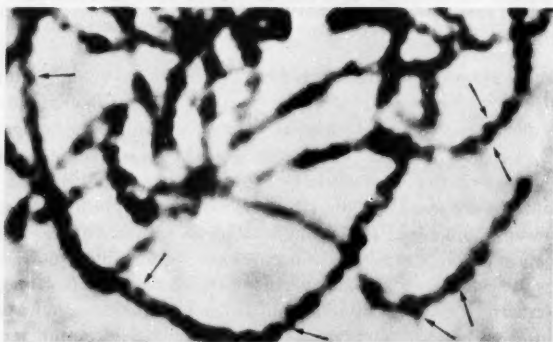


Abb. 7. Pachytän. Ausschnitt eines Kernes zur Verdeutlichung der Spiralisierung (Orcein-Carnoy 3:1, Phako 3000:1)

dabei auch noch eine ebenfalls nur scheinbare Verkürzung erfahren. Das Chromosomenbild im Pachytän ist nicht so einheitlich wie bei *Bellevalia*, sondern es finden sich an mehreren Stellen auffallend größere, stärkere und gleichzeitig dunkler gefärbte Segmente, welche jedoch

ebenso wie alle übrigen Chromosomenanteile in eine ziemlich gleichmäßige Spirale einbezogen werden (Abb. 7). Die Chromosomen lassen in diesem Stadium eine Art Hüllsubstanz erkennen, die man als Matrix im herkömmlichen Sinne bezeichnen kann. Die Paarung ist im mittleren Pachytän noch so stark, daß die Chromosomenpaare vielfach als ein einfacher spiralisierter Strang erscheinen (Abb. 7); dadurch werden die Strukturunterschiede sehr verdeutlicht. Im späten Pachytän lockert sich die Paarung (Abb. 6); die chromomerenartigen dunklen Segmente erscheinen dann an homologen Stellen nicht gegenüberliegend, sondern, bedingt durch die Spiralisierung, schräg gegeneinander versetzt. — Als Beispiel dafür, daß die bisherigen Strukturen am Chromosom offensichtlich

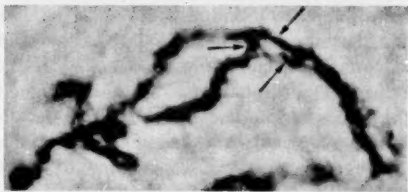


Abb. 8. Diplotän. Bivalent mit einem gut erkennbaren Chiasma. Längsgliederung der Chromosomen bzw. Chromatiden (Orcell-Carnoy 3:1, Phako 2000:1)

beibehalten werden, wobei allerdings die Färbbarkeit zunimmt, führen wir Abb. 8 an. Es handelt sich dabei um ein Bivalent im Diplotän mit einem gut sichtbaren Chiasma und deutlich erkennbaren dunklen und hellen Segmenten der in Chromatiden weitgehend längsgeteilten Chromosomen.

D. Diskussion der Ergebnisse

In der vorliegenden Arbeit handelt es sich im wesentlichen darum, unsere Befunde von der Chromosomenstruktur und deren Veränderungen während des Ablaufs der meiotischen Prophase um ein weiteres Beispiel zu ergänzen (vgl. OEHLKERS und EBERLE 1957). Infolgedessen können wir uns hier darauf beschränken, die hauptsächlichsten Unterschiede gegenüber *Bellevia* herauszustellen; die wesentlichsten allgemeinen Probleme sind in der genannten Arbeit bereits erörtert. An eine weitere Abhandlung soll dann noch einmal eine etwas ausführlichere Diskussion angeschlossen werden.

1. Die Spiralisierung im Verlauf der meiotischen Prophase

Ebenso wie bei *Bellevia* findet man auch bei *Paeonia* im prämeiotischen Ruhekerne spiralisierte Chromosomen. Wir deuten sie mit NEBEL und RUTTLE (1936) als Restspiralen aus der vorhergehenden Telophase. Erst im Leptotän erfahren die Ruhekernechromosomen ihre maximale Streckung. Die erneute und nunmehr meiotische Spiralisierung beginnt ebenfalls im späten Leptotän. Doch erreichen die — optisch — als feine Wellung erscheinenden Spiralen nur einen sehr geringen Durchmesser. Obgleich der Vorgang ziemlich gleichmäßig einsetzt, sind — unterschiedlich zu *Bellevia* — die vielfach stärker anfärbbaren mehr proxi-

malen Chromosomenabschnitte bevorzugt. Über die Ursachen der im späten Leptotän einsetzenden Spiralisierung, wodurch beide Chromatinsorten gleichzeitig erfaßt werden, können wir nichts aussagen; es kann sich um den Einfluß äußerer oder innerer Bedingungen handeln (vgl. die zusammenfassende Darstellung von J. MANTON 1950). Als besonders bedeutungsvoll zeigt sich auch hier wieder, daß die Chromosomen bereits vor Paarungsbeginn spiralisiert sind. Die Pachytänchromosomen liegen somit als Anorthospiralen vor, wenn auch bei diesem Objekt mit vielen Umwindungen. Somit ist also auch bei *Paeonia* die freie Trennbarkeit der Chromosomen im Diplotän bereits vor Beginn der Paarung gewährleistet. Die früher oftmals vertretene Auffassung, der völlig gestreckte Zustand der Chromosomen sei für die Homologenpaarung der günstigste, ja, dieser könnte sogar die Ursache der Paarung sein (STRAUB 1938, I. und K. SAX 1935), findet also ebensowenig durch die Bearbeitung der Prophase von *Paeonia* als durch diejenige von *Bellevalia* eine Stütze.

2. Die Struktur der Chromosomen

Der prämeiotische Ruhekern von *Paeonia* läßt im Gegensatz zu dem von *Bellevalia* distinktere und umfangreichere Chromosomenabschnitte erkennen, die sich durch ihre starke Anfärbbarkeit und Mächtigkeit als heterochromatische von den dünneren und schwächer gefärbten euchromatischen Teilen unterscheiden. Dabei ist es durchaus möglich, daß die relativ langen euchromatischen Zwischenstücke für den lockeren Aufbau des prämeiotischen Ruhekerns verantwortlich sind; denn es gibt Angaben darüber, daß sich das Euchromatin bereits in der späten Telophase entspiralisiert (vgl. JAPHA 1939). Bei unserem Objekt, bei dem das Euchromatin selten als größere Chromosomenstrecke gegeben ist, kommt durch dies Verhalten lediglich eine gewisse Gesamtentspiralisierung zustande. Letzterer wirken die heterochromatischen Segmente entgegen, so daß man bei Verwendung ungeeigneter Fixierungsmittel und eines Mikroskops ohne Phasenkontrasteinrichtung im Ruhekern eine größere Anzahl kleiner färbbarer Partikel, die Chromozentren, erkennen kann. Noch während des Leptotäns zeigt sich wie bei *Bellevalia* eine deutliche Zunahme der Färbbarkeit, die besonders die heterochromatischen Abschnitte umfaßt. Im Gegensatz zu *Bellevalia* fällt eine Bevorzugung der mehr proximalen Chromosomensegmente auf. Damit ist *Paeonia* nach der üblichen Definition ein „partiell-heterochromatisches“ Objekt, ohne aber die sog. „rein euchromatischen“ Chromosomenenden. Denn hier finden sich in fast allen Chromosomenbezirken deutlich größere und kleinere heterochromatische Segmente; insbesondere im Pachytän ist das deutlich erkennbar (vgl. HEITZ 1932).

Nachdem wir bei unserem früheren Objekt *Bellevalia*, dessen Chromosomen als „rein euchromatisch“ angesehen wurden, genau denselben

Unterschied zwischen schwach und stark färbbaren Segmenten in der Chromosomen-Längsstruktur aufweisen konnten wie bei solchen mit „heterochromatischen“ Chromosomen — unterschiedlich ist allein die Verteilungsweise der beiden Chromatine — ist es wenig wahrscheinlich, daß es überhaupt „rein euchromatische“ Objekte gibt. Aus allgemeinen Gründen war das, wie schon früher dargelegt, auch zu erwarten. Daß außer der stärkeren Anfärbbarkeit sowie einem größeren Fadendurchmesser auch noch die frühere Spiralisierung und spätere Entspiralisierung (Dekondensation, MARQUARDT 1937) als Definitionsmomente des Begriffes „Heterochromatin“ hinzukommen, ist für *Paeonia* wenigstens andeutungsweise erkennbar. Bei *Bellevalia* war das dann wegen der Verteilungsweise der Chromatine unmöglich. Schwerer ist die Frage zu beantworten, ob und in welcher Weise sich die beiden Chromatine in ihrem Spiralisationsrhythmus gegenseitig beeinflussen und ob er etwa von Art zu Art verschieden ist? Ein Studium von Bastarden kreuzbarer Objekte mit verschiedenartiger Verteilung der Chromatine wäre also wünschenswert und aufschlußreich, vorausgesetzt, daß auch die frühesten Stadien der Meiosis mit einbezogen werden.

Bereits im Zygotän sind oftmals kugelige, vorwiegend heterochromatische Gebilde erkennbar. Diese werden gewöhnlich als Chromomeren bezeichnet und können zweierlei Entstehungsursachen haben: einmal ist es möglich, daß sich kurze verdickte aber unspiralisierte heterochromatische Segmente im Ablauf der Chromatisierung stärker kennzeichnen; zum anderen können es — und das ist meist der Fall — spiralisierte längere heterochromatische Segmente sein. In euchromatischen Bereichen entsteht durch diese Spiralisierung viel weniger der chromomerenartige optische Täuschungseffekt, bzw. es ist die optische Täuschung leichter erkennbar. Auffallenderweise besitzen die Chromosomen im Pachytän von *Paeonia* in ihren besonders dicken heterochromatischen Abschnitten keinen ebenso großen Spiraldurchmesser, wie es in Segmenten mit geringerer Aufladung der Fall ist. Vergleicht man sie mit den hochspiralisierten Chromosomen von *Bellevalia*, welche heterochromatische Abschnitte geringerer Sträke über die gesamten Chromosomen gleichmäßig verteilt aufweisen, so liegt die Schlußfolgerung nahe, daß konzentriert gegebenes Heterochromatin im Pachytän die Erhöhung des Spiraldurchmessers hemmt, während geringe Mengen fördern.

Zusammenfassung

1. Die Chromosomen des prämeiotischen Ruhekerens von *Paeonia tenuifolia* L. sind spiralisiert. Sie erfahren erst im Laufe des frühen Leptotäns ihre maximale Streckung. Die meiotische Spiralisierung setzt im späten Leptotän ein und steigert sich im Verlaufe der weiteren

Prophase; sie erreicht jedoch keineswegs jenen Grad wie für *Bellevalia* dargelegt.

2. Die Chromosomen paaren sich im spiralisierten Zustande, so daß die Chromosomenpaare als Anorthospiralen vorliegen; ihre spätere freie Trennbarkeit ist aber von vornherein gewährleistet.

3. Bereits die Chromosomen des prämeiotischen Ruhekerne besitzen eine Längsgliederung in dickere und stärker anfärbbare heterochromatische sowie in dünnere und schwächer färbbare euchromatische Abschnitte. Diese Strukturen sind bereits im Leptotän deutlich ausgeprägt zu erkennen, aber auch noch gut im Diplotän sichtbar.

4. Die Verteilung von Hetero- und Euchromatin ist nicht so gleichmäßig wie bei *Bellevalia*. Vielmehr besitzen die mehr proximalen Chromosomenabschnitte besonders viel Heterochromatin; deshalb ist die erneute Spiralisierung ebenfalls nicht gleichmäßig.

5. Für die Entstehung von kugeligen Gebilden während der meiotischen Prophase, welche man als Chromomeren bezeichnen kann, wurden zweierlei Ursachen gefunden: a) die im Leptotän einsetzende Chromosomenspiralisierung, b) die Vergrößerung kurzer heterochromatischer Segmente.

Literatur

- BELLING, J.: Chromomeres of liliaceous plants. Univ. California Publ. Bot. 16, 153—170 (1931). — CAMARA, A. DE SOUZA DA: Beiträge zur Kenntnis des Spiralbaus der Chromosomen. Z. Vererbungslehre 74, 202—215 (1938). — DARLINGTON, C. D.: Chromosome studies in the Scilleae. J. Genet. 16, 237—251 (1926). — DARK, S. O. S.: Meiosis in diploid and tetraploid *Paeonia species*. J. Genet. 32, 353—372 (1936). — EBERLE, P.: Zytologische Untersuchungen an Gesneriaceen. I. Die Struktur der Pachytänchromosomen, sowie eine Reihe neu bestimmter Chromosomenzahlen. Chromosoma 8, 285—316 (1956). — GETTLER, L.: Chromosomenbau. Protoplasma-Monogr. 14 (1938). — GOTTSCHALK, W.: Die Chromosomenstruktur der Solanaceen unter Berücksichtigung phylogenetischer Fragestellungen. Chromosoma 6, 539—626 (1954). — HUSKINS, C. L.: The internal structure of chromosomes. A statement of opinion. Cytologia (Fujii-Jub.-Bd.) 1937, 1015—1022. — JAPHA, B.: Die Meiosis von *Oenothera*. II. Z. Bot. 34, 321—369 (1939). — KAWADA, Y.: Chromosome structure. A critical review. Cytologia 10, 213—256 (1939). — LINNERT, G.: Die Struktur der Pachytänchromosomen in Eu- und Heterochromatin und ihre Auswirkung auf die Chiasmabildung bei *Salvia*-Arten. Chromosoma 7, 90—128 (1955). — MANTON, I.: The spiral structure of chromosomes. Biol. Rev. 25, 486—508 (1950). — MARQUARDT, H.: Über die spontanen Aberrationen in der Anaphase der Meiosis von *Paeonia tenuifolia*. Chromosoma 5, 81—112 (1952). — Die Meiosis von *Oenothera* I. Z. Zellforsch. 27, 159—210 (1937). — MATSUURA, H.: On the number of spiral gyres in the chromonemata. Jap. J. Genet. 9 (1934). Zit. nach STRAUB 1938. — MOSES, M. J., and J. H. TAYLOR: Desoxyxypentose nucleic acid during microsporogenesis in *Tradescantia*. Exper. Cell Res. 9, 474—488 (1955). — NEBEL, B. R.: Chromosome structure in *Tradescantia*. I. Methods and morphology. Z. Zellforsch. 16, 251—284 (1932). — NEBEL, B. R., and M. L. RUTTLE: Chromosome structure in *Tradescantia*. VI. Further observations on the direction of coiling in *Tradescantia reflexa* and *Trillium erectum*. Amer. J. Bot. 23, 652—663

(1936). — OEHLKERS, F.: Cytologische und cytogenetische Untersuchungen an *Streptocarpus*. Z. Bot. 39, 113—153 (1944). — OEHLKERS, F., u. P. EEBERLE: Spiralen und Chromomeren in der Meiosis von *Bellevalia romana*. Chromosoma 8, 351—363 (1957). — RUCH, F.: Über den Schraubenbau der meiotischen Chromosomen. Chromosoma 3, 357—392 (1950). — RUTTLE, M. L., and B. R. NEBEL: Chromosome structure. XI. *Hordeum vulgare* L. and *Secale cereale* L. Cytologia (Fujii-Jub.-Bd.) 1937, 553—568. — SAX, K.: Chromosome structure in the meiotic chromosomes of *Rhoeo discolor* HANCE. J. Arnolds Arb. 16, 216—224 (1935). — SCHERZ, CH.: Über die Chromosomenstruktur in der meiotischen Prophase einiger Compositen. Diss. Freiburg i. Br. 1956. — SINOTO, Y.: Karyotype analysis in *Paeonia*. I. Cytologia 9, 254—271 (1938/39). — STEBBINS jr., G. L.: Cytogenetic studies in *Paeonia*. II. The cytology of the diploid species and hybrids. Genetics 23, 83—110 (1938). STRAUB, J.: Neuere karyologische Probleme und Ergebnisse. IV. Die Spiralstrukturen der Chromosomen. Sammelreferat. Z. Bot. 33, 65—126 (1938). — WALTERS, J. L.: Spontaneous meiotic chromosome breakage in natural populations of *Paeonia californica*. Amer. J. Bot. 5, 342—353 (1956). — YAMAHA, G.: Über die p_H -Schwankungen in der sich teilenden Pollenmutterzelle einiger Pflanzen. Cytologia 6, 523—526 (1934/35).

Dr. PAUL EEBERLE, Botanisches Institut der Universität Freiburg i. Br.,
Schänzlestr. 9—11

Aus dem Forstbotanischen Institut der Universität Freiburg i. Br.

DAS PROBLEM DER GENOMSONDERUNG IN DEN MITOSEN UNBEHANDELTEN RATTENLEBERN

Von

EBERHARD GLÄSS*

Mit 5 Textabbildungen

(Eingegangen am 25. Oktober 1956)

Inhalt

| | Seite |
|---|-------|
| Einleitung | 468 |
| Material und Methode | 469 |
| Experimenteller Teil | 469 |
| 1. Das Phänomen der Genomsonderung | 469 |
| a) Die Verhältnisse bei diploiden Metaphasen. S. 469. — b) Die Verhältnisse bei haploiden Metaphasen. S. 471. — c) Die Verhältnisse bei polyploiden Metaphasen. S. 471. | |
| 2. Die Sonderfälle der Genomsonderung | 474 |
| 3. Die Genomsonderung bei gleichaltrigen und verschiedenaltigen Tieren | 475 |
| a) Die Genomsonderung bei Tieren gleichen Alters. S. 475. — b) Die Genomsonderung bei Tieren verschiedenen Alters. S. 476. | |
| 4. Genomsonderung und Polyploidiegrad | 478 |
| Diskussion | 479 |
| 1. Das Problem der Genomsonderung | 479 |
| 2. Anaphasestörungen und Chromosomenzahlmuster | 483 |
| 3. Genomsonderung und Polyploidie | 485 |
| Zusammenfassung | 489 |
| Literatur | 490 |

Einleitung

Durch Vorbehandlung der Gewebe und geeignete Fixierung gelang es erstmals, den Karyotyp der Rattenleber einwandfrei zu analysieren und eine scharfe Charakterisierung und Identifizierung der einzelnen Chromosomen eines Kernes durchzuführen (GLÄSS 1956). Bei zytologischen Untersuchungen an unbehandelten Rattenlebern konnten MARQUARDT und GLÄSS (im Druck) zeigen, daß in der Leber ein bestimmtes Kernmuster (bzw. Mitosemuster) vorhanden ist, dessen Zusammensetzung in enger Beziehung zum Alter der Tiere steht. Dabei stießen wir auf ein interessantes Phänomen: In mehreren diploiden, polyploiden und aneuploiden Metaphasen waren die Chromosomen nicht zufällig durcheinandergelagert, sondern in mehr oder minder deutlich getrennte Gruppen untergegliedert. Bei diploiden Metaphasen ($2n = 42$)

* Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

konnten wir mit Hilfe der Lage der Kinetochoren sowie durch ein für jedes Chromosom charakteristisches Muster von differentiellen Segmenten einwandfrei nachweisen, daß jeweils die Homologen voneinander getrennt werden (GLÄSS 1956). Wir bezeichneten diese Aufteilung in Einzelgenome als Genomsonderung, ein Ausdruck, der bereits von BAUER (1943) geprägt wurde, um die von SUOMALAINEN (1940) in der Meiosis von polyploiden parthenogenetischen Rüsselkäfern beobachteten speziellen Chromosomen-Gruppierungen zu charakterisieren.

Nachdem bisher das Phänomen der Genomsonderung als solches erstmals exakt beobachtet wurde, werden in der vorliegenden Arbeit die einzelnen Kombinationsmöglichkeiten der Genomsonderung aufgezeigt und die Abhängigkeit der Genomsonderung vom Alter der Tiere und den verschiedenen Polyploidiegraden in der Leber beschrieben.

Material und Methode

Es wurden die Mitosen der Leber von 3 neugeborenen (12 Std alten), 3 jungen (6 Tage alten) und 4 erwachsenen (6 Monate alten) Ratten getestet. Die Tiere stammten aus dem Versuchsmaterial der Arbeitsgemeinschaft von Prof. MARQUARDT (Forstbotanisches Institut der Universität Freiburg i. Br.) und Prof. ALTMANN und Dr. GRUNDMANN (Pathologisches Institut der Universität Freiburg i. Br.); wir sind ihnen für die freundliche Überlassung der Tiere und für viele wertvolle Ratschläge zu Dank verbunden. Die Lebern der erwachsenen Tiere wurden durch partielle Hepatektomie zu vermehrten Teilungen angeregt und nach 48 Std die im Tier verbleibende regenerierende Leber untersucht. Sofort nach Entnahme wurde das Gewebe in kleine Stückchen zerteilt und einige Zeit mit hypotonischer Lösung vorbehandelt. Andere Gewebestückchen wurden in eine schwache Konzentration von 8-Oxychinolin gelegt. Danach wurde mehrere Stunden in Carnoy (Alkohol: Eisessig = 3:1) fixiert und die Leberstückchen anschließend in 70%igem Alkohol aufbewahrt. Gefärbt wurde mit einem Gemisch von Karmin-Essigsäure-Glycerin (GLÄSS 1956) über mehrere Tage. Die Auswertung erfolgte an Hand von Quetschpräparaten, und zwar mit Phasenkontrast. Für methodische Einzelheiten sei auf die Arbeit MARQUARDT und GLÄSS (im Druck) verwiesen.

Experimenteller Teil

1. Das Phänomen der Genomsonderung

a) *Die Verhältnisse bei diploiden Metaphasen.* In diploiden Metaphasen kann die Genomsonderung im allgemeinen als Sonderung in die beiden haploiden Genome vorliegen ($42 = 21:21$), daneben können aber auch ein oder beide haploide Genome eine weitere Untergliederung in 11 und 10 Chromosomen aufweisen (s. Abschnitt b). Theoretisch ergeben sich daher in diploiden Metaphasen folgende Kombinationsmöglichkeiten der Genomsonderung: $21:21$, $21:11:10$, $11:10:11:10$. Die wirklich aufgefundenen Kombinationen der Genomsonderung sind in Tabelle 1 aufgezeichnet. Bemerkenswert ist, daß neben der Sonderung in 2 haploide Chromosomensätze (s. a. Abb. 1) eine weitere Unter-

Abb. 1

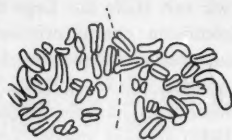
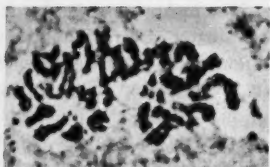


Abb. 2

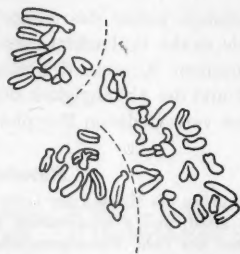


Abb. 3

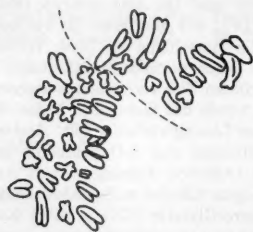
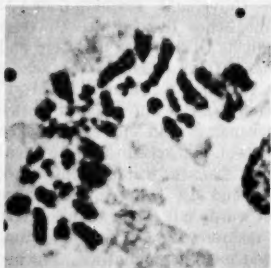


Abb. 4

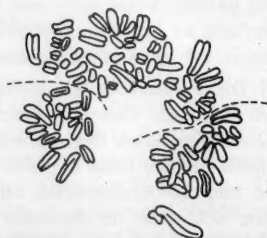
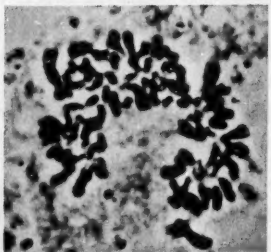


Abb. 1. Diploide Metaphase mit Genomsonderung in zwei haploide Chromosomensätze (21:21). — Abb. 2. Diploide Metaphase mit Genomsonderung. Ein haploider Chromosomensatz normal gesondert, der andere unterteilt in 2 Chromosomengruppen von 11 und 10 Chromosomen (21:11:10). — Abb. 3. Sonderfall der Genomsonderung in einer diploiden Metaphase. Trennung von zwei aneuploiden Chromosomengruppen (27:15). — Abb. 4. Genomsonderung in einer tetraploiden Metaphase in einen diploiden und zwei haploiden Chromosomensätze (42:21:21)

gliederung immer nur in einem haploiden Genom auftritt (Abb. 2), nie aber in beiden zugleich (vgl. auch die Verhältnisse bei polyploiden Kernen.) Weiter finden wir neben den erwähnten und allgemein üblichen Kombinationsmöglichkeiten einige Sonderfälle der Genomsonderung verzeichnet, d. h. keine Sonderung der 42 Chromosomen in ganze Genome, sondern meist in zwei zahlenmäßig voneinander verschiedene — also aneuploide — Chromosomengruppen (Abb. 3), auf die im nächsten Kapitel näher eingegangen werden soll.

b) *Die Verhältnisse bei haploiden Metaphasen.* In haploiden Metaphasen findet man gelegentlich die 21 Chromosomen in 2 Gruppen von 11 und 10 Chromosomen getrennt. Es erhebt sich dabei die Frage, ob es berechtigt ist, diese Spaltung des haploiden Chromosomensatzes als Genomsonderung im Sinne unserer Definition (GLÄSS 1956) zu betrachten oder ob es geeigneter wäre, diesen Zustand als Sonderfall zu werten. Im diploiden Stadium bezeichneten wir eine Halbierung des Chromosomensatzes in 2 Gruppen zu je 21 Chromosomen als Genomsonderung; da wir in den zur Debatte stehenden haploiden Kernen ebenfalls eine Halbierung vorfinden, haben wir auch diesen Zustand als Genomsonderung bezeichnet, zumal diese Sonderung in 11 und 10 Chromosomen immerhin in 5% aller haploiden Metaphasen auffindbar ist und auch in polyploiden Stadien festgestellt wurde (s. Tabelle 1). Während es jedoch in polyploiden, vor allem aber in diploiden Metaphasen gelang, die einzelnen Homologen voneinander zu trennen, fehlt in haploiden Kernen bisher der Nachweis, daß bei den 2 Gruppen von 11 und 10 Chromosomen jeweils immer dieselben Chromosomen zusammen in einer Gruppe vereinigt werden.

c) *Die Verhältnisse bei polyploiden Metaphasen.* Bei polyploiden Metaphasen findet naturgemäß eine umfangreichere Aufgliederung statt, wobei jedoch in der Regel immer ganze Genome abgegliedert werden. Es ist dabei verständlich, daß neben der Sonderung in einzelne haploide Genome auch eine Sonderung in diploide bzw. höher-ploide Chromosomensätze zustande kommt (Abb. 4). So kann in tetraploiden Metaphasen (84 Chromosomen) die Genomsonderung theoretisch bereits folgende Formen annehmen: 63:21, 42:42, 42:21:21, 21:21:21:21. Durch eine weitere Aufteilung der jeweiligen haploiden Genome — z. B. in 42:21:11:10 — wird die Anzahl der Kombinationsmöglichkeiten noch wesentlich erhöht, so daß in tetraploiden Metaphasen bereits 11 verschiedene Formen der Genomsonderung vorliegen können. Es sei bemerkt, daß sich die durch Genomsonderung ausgezeichneten Kerne (z. B. 84 = 42:42) ohne weiteres von zwei-kernigen Zellen unterscheiden lassen, die in geringer Anzahl auch in der Rattenleber vorkommen können (vgl. BEAMS und KING 1942, AUBIN und BUCHER 1952, MARQUARDT und GLÄSS). Um die tabellarische Erfassung der verschiedenen

Tabelle 1. Die verschiedenen Möglichkeiten der Genomsonderung
1n (21 Chromosomen)

| | Meta- phasen gesamt | Mögliche Kombinationen | |
|------------|---------------------------|---------------------------|------------|
| | | 21 % | 11:10 % |
| Embryonal | 17 | 100 | 0,0 |
| Jung . . . | 37 | 97,3 | 2,7 |
| Erwachsen | 41 | 92,7 | 7,3 |

2n (42 Chromosomen)

| | Meta- phasen gesamt | Mögliche Kombinationen | | | Sonder- fälle |
|------------|---------------------------|---------------------------|------------|---------------|------------------|
| | | 42 % | 21:21 % | 21:11:10 % | |
| Embryonal | 451 | 91,4 | 7,9 | 0,7 | — |
| Jung . . . | 392 | 85,5 | 9,2 | 2,0 | 3,3 |
| Erwachsen | 311 | 85,5 | 12,0 | 2,2 | 0,3 |

3n (63 Chromosomen)

| | Meta- phasen gesamt | Mögliche Kombinationen | | | | |
|------------|---------------------------|------------------------|------------|---------------|---------------|------------------|
| | | 63 % | 42:21 % | 21:21:21 % | 42:11:10 % | 21:21:11:10 % |
| Embryonal | 30 | 70,0 | 13,3 | 13,3 | 3,4 | — |
| Jung . . . | 9 | (44,4) | (44,4) | (11,2) | — | — |
| Erwachsen | 72 | 45,8 | 24,7 | 16,7 | 1,4 | 1,4 |

4n (84 Chromosomen)

| | Meta- phasen gesamt | Mögliche Kombinationen | | | | | | | Sonder- fälle |
|------------|---------------------------|------------------------|------------|------------|---------------|------------------|------------------|---------------------|------------------|
| | | 84 % | 63:21 % | 42:42 % | 42:21:21 % | 21:21:21:21 % | 42:21:11:10 % | 21:21:21:11:10 % | |
| Embryonal | 21 | 52,4 | — | 83,0 | 9,6 | — | — | — | — |
| Jung . . . | 5 | (40,0) | — | (40,0) | (20,0) | — | — | — | — |
| Erwachsen | 125 | 49,6 | 2,4 | 26,4 | 12,8 | 4,8 | 1,6 | 1,6 | 0,8 |

5n (105 Chromosomen)

| | Meta- phasen gesamt | Mögliche Kombinationen | | | | | | | | Sonder- fälle |
|-----------|---------------------------|------------------------|-------|-------|----------|----------|-----------------|--------------------|-----------------|------------------|
| | | 105 | 84:21 | 63:42 | 63:21:21 | 42:42:21 | 42:21: 21:21 | 21:21: 21:21:21 | 42:42: 11:10 | |
| Embryonal | 3 | 1 | — | 1 | — | 1 | — | — | — | — |
| Jung . . | 1 | — | — | — | — | 1 | — | — | — | — |
| Erwachsen | 23 | 11 | 1 | — | — | 6 | 1 | 1 | 1 | 2 |

6n (126 Chromosomen)

| | Meta- phasen gesamt | Gefundene Kombinationen | | | | | | |
|-----------|---------------------------|-------------------------|-------|-------|----------|-------------|----------|----------------|
| | | 126 | 84:42 | 63:63 | 63:42:21 | 63:21:21:21 | 42:42:42 | 42:21:21:21:21 |
| Embryonal | 0 | — | — | — | — | — | — | — |
| Jung . . | 0 | — | — | — | — | — | — | — |
| Erwachsen | 12 | 4 | 1 | 1 | 1 | 1 | 3 | 1 |

7n (147 Chromosomen)

| | Meta- phasen gesamt | Gefundene Kombinationen | | | |
|------------|---------------------------|-------------------------|-------|----------|----------------|
| | | 147 | 84:63 | 63:42:42 | 42:21:21:21:21 |
| Embryonal | 0 | — | — | — | — |
| Jung . . . | 0 | — | — | — | — |
| Erwachsen | 4 | 1 | 1 | 1 | 1 |

8n (168 Chromosomen)

| | Meta- phasen gesamt | Gefundene Kombinationen | | | | Meta- phasen gesamt | Gefundene Kombi- nationen |
|-----------|---------------------------|-------------------------|-------------|----------------|-----|---------------------------|---------------------------------|
| | | 168 | 63:42:42:21 | 42:42:42:21:21 | | | |
| Embryonal | 0 | — | — | — | 9n | 1 | 189 |
| Jung . . | 0 | — | — | — | 10n | 1 | 105:63:42 |
| Erwachsen | 5 | 2 | 1 | 2 | | | |

Kombinationsmöglichkeiten der Genomsonderung in den einzelnen Ploidiestufen — vor allem den hoch polyploiden — nicht zu umfangreich zu gestalten, haben wir in Tabelle 1 für die Sonderung der haploiden Chromosomensätze in polyploiden Kernen nicht alle möglichen Kombinationen aufgeführt, sondern nur die wirklich gefundenen. Die Einzel-tabellen sind weiterhin so angelegt, daß neben den verschiedenen Kombinationsmöglichkeiten auch eine etwaige Einwirkung des Alters abgelesen werden kann.

Auf eine eingehende Besprechung der Einzelbefunde in den verschiedenen Polyploidiegraden sei verzichtet und nur einige allgemeine Ergebnisse der Gesamttabelle dargestellt. Wesentlich ist vor allem, festzustellen, ob sich die Zahl der Zellen mit Genomsonderung auf alle theoretisch möglichen Kombinationen gleichmäßig verteilt oder ob bestimmte Kombinationsmöglichkeiten besonders bevorzugt anzutreffen sind. Bereits bei triploiden Metaphasen fällt auf, daß in den meisten Kernen eine Genomsonderung nach dem Schema diploid: haploid vorhanden ist, während eine Trennung nach Einzelgenomen (21:21:21) in viel geringerem Umfang vorkommt. In höher polyploiden Metaphasen wird die Bevorzugung bestimmter Kombinationen noch deutlicher (z. B. bei 4n und 5n). Während in diploiden Metaphasen bevorzugt ganze Genome gesondert werden (21:21), erfolgt die Aufteilung in polyploiden Metaphasen vorwiegend nach den diploiden Karyotypen

— 42:42 bei Tetraploidie, 42:42:21 bei Pentaploidie und 42:42:42 bei Hexaploidie — seltener dagegen nach Einzelgenomen, z. B. 63:21 bei 4n.

Wir halten also fest, daß bestimmte Kombinationen der Genomsonderung besonders bevorzugt auftreten, die in polyploiden Metaphasen als Grundelement den diploiden Chromosomensatz enthalten.

2. Die Sonderfälle der Genomsonderung

Im vorhergehenden Kapitel haben wir auf einige Sonderfälle der Genomsonderung aufmerksam gemacht, in denen keine Aufteilung nach ganzen Genomen erfolgte. Aus Tabelle 1 geht hervor, daß diese Sonderfälle nie in neugeborenen, nur gelegentlich in jungen und meist bei erwachsenen Tieren vorkommen, und zwar besonders häufig in stark hepatektomierter Rattenleber. Da der Eingriff der Hepatektomie aber für die Leber eine zusätzliche und starke funktionelle Belastung bedeutet, haben wir durch diese Sonderfälle einen Hinweis dafür, daß die Genomsonderung ein normaler und konstanter Vorgang in der unbehandelten Rattenleber ist, der durch eine stärkere funktionelle Beanspruchung eventuell erheblich gestört werden kann. Dieser Hinweis kann vor allem für Untersuchungen an krebsig entarteten Zellen von Bedeutung sein.

Unter 291 Metaphasen, die eine Genomsonderung enthalten, teilen sich 15 (= 5,1%) nicht nach ganzen Genomen oder Karyotypen auf, sondern neben einem vollständigen Genom oder Karyotyp finden sich mindestens zwei weitere Chromosomengruppen mit aneuploider Chromosomenzahl (z. B. 84 = 42:36:6); es kann aber auch eine Sonderung in nur zwei aneuploide Chromosomengruppen auftreten (z. B. 84 = 54:30).

Tabelle 2. Die Sonderfälle der Genomsonderung
2n (42 Chromosomen)

| Metaphasen gesamt | Gefundene Kombinationen | | | | | |
|----------------------|-------------------------|-------|--------------------------|-------|--------|----------|
| | 33:9 | 31:11 | 30:12 | 27:15 | 27:9:6 | 16:15:11 |
| 13 | 23,0% | 15,4% | 15,4% | 15,4% | 23,0% | 7,8% |
| | Metaphasen gesamt | | Gefundene Kombination | | | |
| 4n (84 Chromosomen) | 1 | | 42:36:6 | | | |
| 5n (105 Chromosomen) | 1 | | 21:54:30 | | | |

In Tabelle 2 haben wir die betreffenden Sonderfälle und deren Kombinationen zusammengestellt. Unter den vielen Kombinationsmöglichkeiten einer aneuploiden Sonderung von 42 Chromosomen z. B. ist es besonders auffallend, daß nur einzelne, ganz bestimmte Kombinationen realisiert werden (s. Tabelle). Aus diesen besonders bevorzugten Gruppierungen ragen wiederum bestimmte Zahlenverhältnisse wie 27:15 (= 27:9:6) oder 33:9 nochmals hervor (s. Abb. 3). Bei den

wenigen polyploiden Mitosen mit aneuploider Chromosomensonderung gilt ähnliches. Da derartige Sonderfälle für das Verständnis des Problems der Genomsonderung meist mehr Aufschluß geben als das Normalverhalten selbst, haben wir uns damit besonders eingehend beschäftigt. MARQUARDT und GLÄSS (im Druck) konnten in den verschiedensten Altersstufen unbehandelter Rattenleber eine ganze Anzahl von einwandfrei aneuploiden Mitosen nachweisen, deren Chromosomenzahl und Genomsonderung uns besonders interessierte. Auffallend dabei war es, daß wir in 168 getesteten aneuploiden Kernen gerade die oben erwähnten Chromosomenzahlen der Sonderfälle einer Genomsonderung (27 bzw. 33 oder 54) weitaus am häufigsten aufgefunden haben (GLÄSS unveröff.). Dies scheint ein Zeichen dafür zu sein, daß bestimmte Chromosomengruppierungen einen engeren Zusammenhalt besitzen als andere und daß zwischen Genomsonderung und Polyploidie eine enge Verbindung bestehen muß.

3. Die Genomsonderung bei gleichaltrigen und verschiedenaltigen Tieren

Wir haben bisher die Genomsonderung beschrieben und die verschiedenen Kombinationen bzw. Kombinationsmöglichkeiten dargelegt ohne darauf einzugehen, ob die Genomsonderung in allen untersuchten Tieren vorhanden ist oder nur ein Zufallsergebnis unter gewissen Bedingungen darstellt. Die Ergebnisse der darauf gerichteten Untersuchungen zeigen, daß das Phänomen der Genomsonderung sich nicht nur in einigen, sondern in allen Präparaten und in allen untersuchten Teilen der Leber nachweisen läßt. Ihr Auftreten ist unabhängig vom Alter der Tiere; in Neugeborenen finden sich ebenso Kerne, die eine Genomsonderung aufweisen, wie in jungen und erwachsenen Tieren. Auch in der Leber stark hepatektomierter Tiere treten Zellen mit Genomsonderung auf. Diese Tatsache sagt jedoch nichts aus über den Anteil der Zellen mit Genomsonderung an der Gesamtzahl der untersuchten Mitosen. Sie gibt lediglich an, daß in allen Altersstufen und unabhängig vom Grad der Hepatektomie in der unbehandelten Rattenleber Zellen mit Genomsonderung auftreten. Diese Ergebnisse sprechen dafür, daß die Genomsonderung nicht als zufällige Erscheinung im Kerngefüge der Leber zu werten ist (vgl. GLÄSS 1956), sondern daß ihr eine bestimmte Bedeutung als konstantes Merkmal unbehandelter Rattenleber zukommt.

a) *Die Genomsonderung bei Tieren gleichen Alters.* Nachdem wir das Vorhandensein der Genomsonderung in allen Ploidiegraden und Altersstufen der Rattenleber festgestellt haben, fragt es sich, ob diese Genomsonderung in den verschiedenen gleichaltrigen Tieren gleichmäßig vorkommt und ob die Tiere hinsichtlich dieses Phänomens als homogen anzusprechen sind. In Tabelle 3a—d sind die Ergebnisse dieser quantitativen Untersuchungen wiedergegeben. Die einzelnen Tabellen geben an, wieviel Prozent Metaphasen keine Genomsonderung besitzen, d. h.

„normal“ sind, und wieviel Prozent Zellen demgegenüber eine Genomsonderung enthalten. Es ist dabei gleichgültig, ob die Zellen di- oder polyploid sind und welcher Art die Sonderung ist. Tabelle 3a zeigt, daß bei neugeborenen, 12 Std alten Ratten nur geringe Schwankungen in der Anzahl der Zellen mit Genomsonderung zwischen den Tieren vorhanden sind, die innerhalb des normalen Schwankungsbereiches liegen. In der Leber junger (6 Tage alter) und erwachsener (6 Monate alter)

Tabelle 3. Die Genomsonderung bei Tieren verschiedenen Alters

| | | Tier Nr. | Meta- phasen gesamt | Normal % | Genom- sonderung % |
|----|---|-------------|---------------------------|-------------|--------------------------|
| a) | 12 Std alt | A | 124 | 90,3 | 9,7 |
| | 12 Std alt | B | 167 | 88,6 | 11,4 |
| | 12 Std alt | C | 231 | 84,9 | 15,1 |
| | | | 522 | 87,4 | 12,6 |
| b) | 6 Tage alt | A' | 193 | 81,4 | 18,6 |
| | 6 Tage alt | B' | 145 | 84,2 | 15,8 |
| | 6 Tage alt | C' | 106 | 80,4 | 19,8 |
| | | | 444 | 82,0 | 18,0 |
| c) | 6 Monate alt ($\frac{2}{3}$ hepatektomiert) | I | 83 | 71,1 | 28,9 |
| | | II | 231 | 72,3 | 27,7 |
| | | III | 108 | 67,1 | 32,9 |
| | | | 422 | 71,1 | 28,9 |
| d) | 6 Monate alt ($\frac{3}{4}$ hepatektomiert) | IV | 215 | 67,0 | 33,0 |

Ratten sind die Differenzen innerhalb der gleichaltrigen Tiere noch geringer. Daraus folgt, daß in den Tieren gleichen Alters ebenso wie in den einzelnen Partien der Leber gleichviel Zellen mit Genomsonderung vorhanden sind, d. h.: Die einzelnen Tiere einer Altersklasse sind hinsichtlich des Phänomens der Genomsonderung als homogen anzusehen.

b) Die Genomsonderung bei Tieren verschiedenen Alters. Wie ein Vergleich der Tabelle 3a—c zeigt, enthalten bei neugeborenen Tieren 12,6% aller Zellen eine Genomsonderung, bei jungen Ratten steigt die Zahl der Zellen mit Genomsonderung auf 18% an und erreicht bei erwachsenen Tieren 28%. Dieser lineare Anstieg macht es deutlich, daß mit zunehmendem Alter auch der Anteil der Zellen mit Genomsonderung ansteigt. Nun konnten aber MARQUARDT und GLÄSS (im Druck) nachweisen, daß sich mit steigendem Alter auch die Anzahl der polyploiden Kerne in der Rattenleber erhöht. Parallel dem Alter geht also sowohl ein Anstieg der polyploiden Kerne wie auch der Zellen mit Genomsonde-

rung einher. Wir finden somit eine Beziehung zwischen Polyploidie und Genomsonderung, die darauf hinweist, daß beide Phänomene in bestimmter Weise miteinander verknüpft sind und daß das Auftreten der Genomsonderung im Gewebe der Rattenleber mit der Ausbildung der verschiedenen Polyploidiegrade in Zusammenhang stehen muß.

Inwieweit das Alter selbst daran beteiligt ist, soll im folgenden behandelt werden. Die Anordnung der Tabelle 4a—c ermöglicht es, die Anzahl der Zellen mit Genomsonderung in den einzelnen Ploidiegraden in Abhängigkeit vom Alter untereinander zu vergleichen. Auffallend ist vor allem, daß nur bei haploiden Meta-

Tabelle 4. Die Abhängigkeit der Genomsonderung vom Polyploidiegrad

| | Poly- ploidie- grad | Meta- phasen gesamt | Normal % | Genom- sonde- rung % |
|-----------------|---------------------------|---------------------------|-------------|-------------------------------|
| a) 12 Std alt | 1n | 17 | 100,0 | 0,0 |
| | 2n | 451 | 91,4 | 8,6 |
| | 3n | 30 | 70,0 | 30,0 |
| | 4n | 21 | 52,4 | 47,6 |
| | 5n | 3 | 33,4 | 66,6 |
| b) 6 Tage alt | 1n | 37 | 97,3 | 2,7 |
| | 2n | 392 | 85,5 | 14,5 |
| | 3n | 9 | 44,5 | 55,5 |
| | 4n | 5 | 40,0 | 60,0 |
| | 5n | 1 | 0,0 | 100,0 |
| c) 6 Monate alt | 1n | 41 | 97,7 | 7,3 |
| | 2n | 311 | 85,5 | 14,5 |
| | 3n | 72 | 45,8 | 54,2 |
| | 4n | 125 | 49,6 | 50,4 |
| | 5n | 23 | 47,9 | 52,1 |
| | 6n | 12 | 33,4 | 66,6 |
| | 7n | 4 | 25,0 | 75,0 |
| | 8n | 5 | 40,0 | 60,0 |
| | 9n | 1 | 100,0 | 0,0 |
| | 10n | 1 | 0,0 | 100,0 |

phasen die Zahl der Zellen mit Genomsonderung vom Alter der Tiere sowie vom Hepatektomiegrad abhängig zu sein scheint: Mit steigendem Alter und Hepatektomiegrad wächst deren Zahl in folgender Weise an:

| | Alter der Tiere | | | |
|--|-----------------|--------|-------------------------|------------------------|
| | 12 Std | 6 Tage | 6 Monate normal hep. | 6 Monate stark hep. |
| Prozentsatz haploider Zellen mit Genomsonderung | 0,0 | 2,7 | 3,6 | 15,3 |

Beachtenswert in dieser Aufstellung ist vor allem der Einfluß der verstärkten Hepatektomie, durch die das 4fache an Zellen mit Genomsonderung ausgelöst wird als in normal hepatektomierter Leber. Zwischen 12 Std und 6 Tage alten Tieren finden sich ebenfalls Differenzen, indem bei letzteren in allen Ploidiegraden eine höhere Anzahl von Zellen mit Genomsonderung vorliegt als bei Neugeborenen. Besonders auffallend ist es daher, daß zwischen 6 Tage und 6 Monate alten Tieren, bei denen altersmäßig ein weit größerer Unterschied besteht als zwischen 12 Std und 6 Tage alten Ratten, mit Ausnahme der haploiden Kerne

keinerlei Unterschiede im Prozentsatz der Zellen mit Genomsonderung in den einzelnen Polyploidiestufen festzustellen ist (s. Tabelle). Da sich die Einwirkung des Alters und der Hepatektomie aber auch in einer Erhöhung der Polyploidiestufe bemerkbar macht — bei 6 Tage alten Tieren ist die höchste Ploidiestufe $5n$, bei erwachsenen, normal hepatektomierten Tieren $8n$ und bei stark hepatektomierten Lebern $10n$ — ist natürlich die Zunahme der Zellen mit Genomsonderung bei erwachsenen Tieren auf eine größere Anzahl von Ploidiestufen ausgedehnt als bei jungen Ratten. Um so auffallender ist es daher, daß bis zu $4n$ die Werte der beiden Altersstufen in den betreffenden Polyploidiegraden völlig miteinander übereinstimmen (vgl. Tabelle 4b mit c).

Fassen wir zusammen, so ergibt sich nur bei haploiden Metaphasen eine Beeinflussung der Genomsonderung durch das Alter. Eine Einwirkung scheint weiterhin zwischen 12 Std alten und 6 Tage alten Tieren vorzuliegen, da bei letzteren die Anzahl der Zellen mit Genomsonderung in allen Ploidiestufen höher ist als bei den Neugeborenen.

4. Genomsonderung und Polyploidiegrad

Die enge Beziehung zwischen Alter und Polyploidie einerseits (MARQUARDT und GLÄSS, im Druck) und dem Verhalten der Genomsonderung und Polyploidie andererseits macht es notwendig, die Abhängigkeit der Genomsonderung von den einzelnen Ploidiestufen zu prüfen. Geeignet hierfür ist vor allem die Untersuchung an Zellen mit Genomsonderung in den einzelnen Altersstufen selbst, um dadurch Aufschluß über die Beziehung zwischen Genomsonderung — Polyploidiegrad — und Alter zu erlangen. In Tabelle 4a ist die Beziehung zwischen Genomsonderung und Polyploidiegrad bei Neugeborenen aufgezeichnet. Bei haploiden Metaphasen finden wir keine Genomsonderung; bei diploiden Stadien treten bereits 8,6% derartige Zellen auf. Mit höher werdendem Polyploidiegrad nimmt auch die Anzahl der Zellen mit Genomsonderung zu, und bei pentaploiden Kernen (105 Chromosomen) sind 66,6% aller Metaphasen durch Genomsonderung ausgezeichnet. Bereits bei diesen Mitosen aus der Leber Neugeborener wird deutlich, daß mit steigendem Polyploidiegrad auch die Anzahl der Zellen mit Genomsonderung zunimmt, ein weiterer Beweis für die enge Beziehung zwischen Genomsonderung und Polyploidie. Auch bei jungen, 6 Tage alten Tieren (Tabelle 4b) läßt sich dieselbe Abhängigkeit der Genomsonderung vom Polyploidiegrad feststellen.

Bevor bei erwachsenen Tieren auf die Beziehung zwischen Genomsonderung und Polyploidiegrad eingegangen werden kann, ist es notwendig, erst den Einfluß der Hepatektomie auf die Genomsonderung zu besprechen. MARQUARDT und GLÄSS (im Druck) weisen nach, daß bei verstärkter Hepatektomie mehr polyploide Kerne auftreten und

auch ein höherer Polyploidiegrad erreicht wird. Wie aus Tabelle 3d der vorliegenden Arbeit nun hervorgeht, ist mit dieser verstärkten Hepatektomie auch eine Erhöhung der Zahl von Zellen mit Genomsonderung verbunden. Vergleichen wir Genomsonderung und Polyploidiegrad, so finden wir in allen Ploidiestufen außer der bereits im vorhergehenden Abschnitt besprochenen haploiden Stufe zwischen normaler und stark hepatektomierter Leber nur sehr geringe Differenzen in der Anzahl der Zellen mit Genomsonderung; wir haben daher die Werte der beiden Hepatektomiearten zusammengefaßt.

Betrachten wir nun die Abhängigkeit von Genomsonderung und Polyploidiegrad, so erhalten wir auch bei erwachsenen, hepatektomierten Tieren dieselben Ergebnisse wie bei jungen und neugeborenen Ratten: eine graduelle Zunahme der Zellen mit Genomsonderung bei steigendem Polyploidiegrad.

Wir kommen somit zu dem zwingenden Schluß, daß sich alle Altersstufen hinsichtlich der Genomsonderung als gleichsinnig erweisen. In allen Altersstufen ist die Zahl der Zellen mit Genomsonderung abhängig vom Grad der Polyploidie. Je höher die Polyploidiestufe, desto höher der Prozentsatz an Zellen mit Genomsonderung. Die Stärke der Hepatektomie scheint auf die Verbindung zwischen Genomsonderung und Polyploidiegrad keinen Einfluß zu haben.

Diskussion

1. Das Problem der Genomsonderung

In unbehandelter Rattenleber fanden wir zahlreiche Metaphasen, deren Chromosomen nicht wie üblich regellos durcheinandergelagert, sondern je nach Polyploidiegrad in 2 oder mehr Gruppen gesondert waren. Da nachgewiesen werden konnte, daß es sich bei dieser Gruppierung fast immer um ganze Genome sowie um die Trennung von homologen Chromosomen handelt (GLÄSS 1956), bezeichneten wir diesen Zustand als Genomsonderung. Um einer Verwechslung mit ähnlichen in der Literatur auftauchenden Ausdrücken vorzugreifen, sei zunächst kurz auf die betreffenden Arbeiten eingegangen.

In mehreren Arbeiten untersuchte GRELL (1949, 1950, 1953) die Morphologie und Cytologie des Makronucleus bei Protisten und konnte zeigen, daß der Makronucleus von *Ephelota gemmipara* (Ciliatae) auf endomitotischem Wege polyploid wird (1949). Da der Makronucleus der Ciliaten aber amitotisch zerfällt, folgert GRELL aus dem Nachweis der Polyploidie, „daß bei der Teilung zwangsläufig ganze Genome auseinandersortiert werden müssen, wodurch die ‚Amitose‘ der Ciliaten als eine Genom-Segregation aufzufassen wäre“. Diese Vorstellung der gesetzmäßigen Aufteilung ganzer Genome setzt aber voraus, daß irgendein Zusammenhang zwischen den nicht homologen Chromosomen bestehen bleibt. Bei der Radiolarie *Aulacantha scolymantha* wies GRELL (1953) nun nach, daß während des endomitotischen Formwechsels die Chromatinfäden eine lineare Gliederung in einzelne

Segmente erkennen lassen, wobei letztere durch achromatische Fäden miteinander linear verbunden sind. GRELL betrachtet die Chromatinfäden daher als Sammelchromosomen, die untereinander homolog sind und einem ganzen Genom entsprechen sollen. Da aber beim Auseinanderweichen der Tochterplatten ein mitotischer Formwechsel der Chromosomen sowie eine metaphasische Anordnung fehlt und die agierenden Chromatinelemente ja nicht verschiedenen Einzelchromosomen, sondern homologen Sammelchromosomen entsprechen, läßt sich die Zweiteilung des Primärkernes der Radiolarie *Aulacantha scolymantha* nicht als Mitose interpretieren. GRELL schlägt daher vor, diesen von der normalen Mitose stark abweichenden Teilungsmodus als Genom-Segregation zu bezeichnen.

Inwieweit läßt sich zwischen der Genom-Segregation von GRELL und dem von uns aufgezeigten Phänomen der Genomsonderung eine Übereinstimmung auffinden? Beide Phänomene treten in polyploiden Kernen auf, beidesmal sind ganze Genome daran beteiligt. Während es sich bei GRELL jedoch um Sammelchromosomen handelt, die keiner geregelten Mitose fähig sind, zeigen unsere Untersuchungen, daß das von uns als Genomsonderung bezeichnete Phänomen in normalen Mitosen auftritt, deren Chromosomen einen mitotischen Formwechsel durchführen und auch zur Anaphasenbildung befähigt sind.

Wohl die interessantesten und bisher klarsten Fälle einer Trennung von ganzen Genomen wurden von SUOMALAINEN (1940, 1947) bei der Eiraffung verschiedener polyploider, parthenogenetischer Rüsselkäfer (*Curculionidae*) gefunden. Die parthenogenetischen Arten der Rüsselkäfer zeichnen sich alle dadurch aus, daß nur eine Reifungsteilung, eine Äquationsteilung, abläuft; eine Chromosomenreduktion unterbleibt also. Bei den meisten parthenogenetischen Arten können sich nun die Chromosomen in der Metaphase dieser Reifungsteilung zu 2 oder 3 getrennten Platten anordnen. Bei der tetraploiden Art *Otiorrhynchus dubius*, bei der die Verhältnisse am deutlichsten sind, gelang es SUOMALAINEN (1940), 5 verschiedene Typen von Chromosomengruppierungen festzustellen: 1. der tetraploide Satz von 44 Chromosomen ist in einer Metaphasenplatte vereint, 2. es sind 2 Chromosomengruppen von einmal 33 und einmal 11 Chromosomen vorhanden, 3. zwei Gruppen von je 22 Chromosomen, 4. 3 Chromosomengruppen von einmal 22 und zweimal 11 Chromosomen, 5. zwei oder mehrere ungleich große Chromosomengruppen. Soweit eine Identifizierung der Einzelchromosomen möglich war, scheint es sich dabei nicht nur um eine Trennung von zahlenmäßig gleich großen Chromosomengruppen, sondern um eine Sonderung von Homologen zu handeln; d. h. es scheint eine Sonderung von ganzen Genomen vorzuliegen (vgl. BAUER 1943). Untersuchungen an somatischen Zellen bei der Blastomerenteilung dagegen zeigen keine derartigen Phänomene, die 44 Chromosomen sind normal angeordnet.

Ein Vergleich der Ergebnisse von SUOMALAINEN mit der von uns aufgefundenen Genomsonderung zeigt im Prinzip dieselben Phänomene. Auch in unseren Untersuchungen tritt das Phänomen der Genomsonderung in den Metaphasen am deutlichsten auf, in beiden Fällen kann in polyploiden Metaphasen dieselbe räumliche Sonderung in haplo- und diploide sowie in aneuploide Chromosomensätze erfolgen. Differenzen zwischen den beiden Phänomenen sind einzig darin zu sehen, daß die Befunde von SUOMALAINEN bei der Reifungsteilung (Meiosis) der Eier parthenogenetischer Rüsselkäfer festgestellt wurden, während unsere Ergebnisse an somatischen Zellen (Mitosis) eines Säugetiers gewonnen wurden.

Besondere Beachtung muß auch den Reduktionsmitosen von HUSKINS (1948, 1948) sowie HUSKINS und CHENG (1950) geschenkt werden. Die Autoren stellen in diploiden Kernen der Wurzelspitzenmitose von *Allium cepa* fest, daß die Behandlung mit Natriumribonucleat bzw. Kälte Teilungen auslöst, bei denen allem Anschein nach keine Spindeln auftreten und die Chromosomen in Gruppen aus-

einander getrennt werden. Sie bezeichneten diese Gruppen als „reductional groupings“. Während bei *Allium cepa* der exakte Nachweis einer Trennung von homologen Chromosomen nicht gelang (PÄTAU 1950), wurde dies mit derselben Methode an Wurzelspitzen von *Trillium* erreicht (WILSON und CHENG 1949). Bemerkenswert ist, daß neben einer Trennung in zahlgleiche Chromosomengruppen auch eine prozentual mindestens gleichgroße Aufspaltung in ungleich große Chromosomengruppen verbunden ist. Diese Zahlenungleichheit der einzelnen Gruppen sowie die Tatsache, daß diese reductional groupings nur in diploiden Metaphasen gefunden wurden, sprechen auch hier für wesentliche Differenzen zu unseren Befunden, die meist eine Zahlgleichheit bzw. ganze Genome umfassen. Weiter ist die Genomsonderung vor allem in polyploiden Kernen besonders deutlich ausgeprägt und ein Phänomen der unbehandelten Rattenleber.

In der Literatur taucht bei Untersuchungen tierischer und pflanzlicher Organe gelegentlich der Ausdruck somatische Reduktion auf. SNOAD (1955) findet in colchizinbehandelten Wurzelspitzen von *Hymenocallis calathinum* die Metaphasechromosomen in 2, manchmal auch 3 distingte Gruppen gesondert und glaubt, diese Segregation auf Spindelanomalien zurückführen zu können. Über somatische Reduktionen bei Pflanzen berichten auch WILSON, HAWTHORNE und TSOU (1951) sowie MENZEL (1952), MENZEL und BRAUN (1952) u. a. Auch in tierischem Gewebe kommen derartige somatische Reduktionen vor, wie FARMER, MOORE und WALKER (1904, 1906), WINGE (1930), BERGER (1937, 1938) u. a. berichten. In allen diesen Fällen handelt es sich jedoch nur um einzelne Befunde von Chromosomentrennungen, die mit unserem Problem der Genomsonderung nichts gemeinsam haben.

Aus diesen Beobachtungen heraus folgt, daß wir bisher nur über 4 Fälle genauer orientiert sind, in denen eine Trennung von ganzen Genomen festgestellt wurde:

1. die „reductional groupings“ von HUSKINS in behandelten Wurzelspitzen von *Allium cepa*,
2. die „Genom-Segregation“ von GRELL durch Sammelchromosomen bei der Radiolarie *Aulacantha scolymantha*,
3. die Trennung von gleich großen Chromosomengruppen (Genomsonderung nach BAUER 1943) von SUOMALAINEN in der *Meiosis* tetraploider parthenogenetischer Rüsselkäfer,
4. unsere „Genomsonderung“ in den Mitosen unbehandelter Rattenleber.

Da es sich in einem Fall nur um die Chromosomentrennung in diploiden Pflanzenkernen, im anderen um Sammelchromosomen von Protisten und im dritten Fall um die Eireifung parthenogenetischer Rüsselkäfer handelt, die nur eine Reifungsteilung haben, ist es mit unseren Untersuchungen erstmals gelungen, in einem unbehandelten Organ eines Säugetieres ein Phänomen aufzudecken, durch das in den Mitosen je nach Polyploidiegrad zwei oder mehr ganze Genome voneinander gesondert werden können.

Für eine nähere Analyse des Problems der Genomsonderung ist es unerlässlich, sich zunächst mit dem Zustandekommen dieses Phänomens zu befassen. Wir haben bisher nur festgestellt, daß die Genomsonderung

im Stadium der Metaphase am deutlichsten ausgeprägt ist (Abb. 1—4). Soweit eine Analyse der Prophasen möglich war, scheint die Trennung bereits in diesem Stadium ausgebildet zu sein (Abb. 5). Da in der Interphase keine Bewegung der Chromosomen möglich ist, die Genomsonderung aber auf einer räumlichen Trennung von Chromosomengruppen beruht, kann die Interphase als Entstehungsort der Genomsonderung ausgeschlossen werden. Für die Umordnung kommt daher nur der Übergang Interphase zu Prophase oder aber derjenige der späten Anaphase zur Interphase in Betracht. Eine in der Anaphase vorhandene

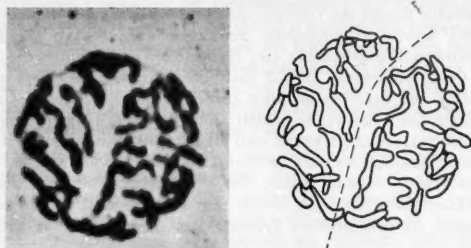


Abb. 5. Diploide Prophase mit Genomsonderung in zwei haploide Chromosomensätze

Genomsonderung kann aber nur in einem entsprechenden Auseinanderweichen der betreffenden Chromosomengruppen zu je einem Pol oder in einer Näherung der betreffenden Chromosomen sichtbar werden. Da aber an den Anaphasepolen für die Ausbreitung der Chromosomen ein wesentlich geringerer Platz zur Verfügung steht als in der Metaphase, ist in normalen Anaphasen eine räumliche Sonderung von Chromosomengruppen bzw. Genomen sehr schwer zu erkennen, zumal im Übergang Meta-Anaphase eine vorhandene Genomsonderung nicht sichtbar ist. Die Möglichkeit, eine Genomsonderung in der Anaphase nachzuweisen, ist daher sehr gering und nur dann möglich, wenn in polyploiden Kernen mehrere Einzelgenome abgesondert werden, so daß daraus in der Anaphase multipolare Spindelbildungen entstehen können. Untersuchungen hinsichtlich dieser speziellen Anaphasenanomalie zeigten (MARQUARDT und GLÄSS, im Druck), daß tatsächlich einige multipolare Spindelbildungen festgestellt werden konnten, deren Anzahl jedoch bei weitem nicht ausreicht, um den hohen Prozentsatz der Zellen mit Genomsonderung zu erklären. Weiterhin ist es ungewiß, ob diese multipolaren Spindelbildungen wirklich mit der Genomsonderung in Zusammenhang stehen und nicht durch eine davon unabhängige Störung entstanden sind, worauf ihr geringer Prozentsatz eher hindeutet.

Wir können daher nur feststellen, daß das Phänomen der Genomsonderung in Pro-, Meta- und Anaphase sichtbar ist. Eine Entscheidung

darüber, ob die Trennung der Karyotypen zu Beginn des Teilungsablaufes beim Übergang von Interphase zu Prophase oder erst am Ende zwischen Anaphase und Interphase auftritt, ist nicht möglich.

2. Anaphasestörungen und Chromosomenzahlmuster

Durch Endomitosen lassen sich nur ganzzahlige Polyploidiestufen erklären, während das Auftreten von tri-, penta- und aneuploiden Chromosomenzahlen nach der bisher geläufigen Auffassung allgemein auf Mitoseanomalien zurückgeführt wird. Um Einblick in derartige Vorgänge zu erlangen, müssen dafür vor allem Anaphasestörungen herangezogen werden wie Verklebungen oder Brückenbildungen von Chromosomen, die eine Fehlverteilung hervorrufen und zu aneuploiden Kernen führen können oder multipolare Spindelstörungen, durch die eine Aufgliederung polyploider Stadien möglich ist. Durch derartige multipolare Spindelbildungen wäre die Möglichkeit gegeben, aus geradzahlig polyploiden Kernen heteroploide zu erreichen.

Daß derartige Anomalien im tierischen Gewebe verbreitet sind, wird schon aus den Anfängen der Polyploidieforschung berichtet (STRASSBURGER 1880, V. HANSEMAN 1891, BOWERI 1902, WIEMANN 1912/13, EWALD 1920, KARPLUS 1930, SOKOLOW 1936 u. a.). So erwähnt z. B. VON HANSEMAN (1893), daß bei hochhypochromatischen Mitosen „eine Reduktion der Chromosomen stattfindet, so daß dadurch die Chromosomenzahl wieder auf die Norm zurückgeführt werden kann. Man findet dort solche Mitosen mit 3, 4, 6, 8, 12, 20 und mehr Polen“. Auch die neueren Untersuchungen auf dem Gebiete tierischer Zytologie sprechen von polyploiden und aneuploiden Chromosomenzahlen (BIELSELE 1944, THERMAN und TIMONEN 1951, HSU 1952, LEVAN und HAUSKA 1952, MELANDER 1952, HSU und POMERAT 1953, MAKINO und TANAKA 1953, TANAKA 1953, LIPP 1953, FRITZ-NIGGLI 1954, WALKER und BOOTHROYD 1954 u. a.), und bis in die heutige Zeit ist allgemein die Ansicht verbreitet (vgl. auch zit. Literatur bei TISCHLER 1951 sowie D'AMATO 1952), daß triploide, pentaploide sowie aneuploide Chromosomenzahlen praktisch nur durch Spindelanomalien hervorgerufen werden, und in einer umfangreichen Literatur wird das Vorkommen derartiger Störungen in den Mitosen nachgewiesen.

Daß Spindelstörungen zur Ausbildung von tri-, penta- und aneuploiden Chromosomenzahlen führen können, ist zweifellos richtig. Dennoch sind gewisse Bedenken am Platze, da für eine derartige Variationsbreite der Chromosomenzahlen, wie sie in tierischen Geweben festgestellt wurde, zumindest zwei grundlegende Voraussetzungen erfüllt sein müssen:

1. Die Anzahl der auftretenden Spindelstörungen muß genügend groß sein, um daraus die vom Endomitosezyklus abweichenden Chromosomenzahlen ableiten zu können.

2. Da in der Leber aller gleichaltrigen Ratten dasselbe Mitosemuster ausgebildet ist und daher alle Tiere einer Altersstufe hinsichtlich der Zusammensetzung ihrer Polyploidiegrade als homogen anzusehen sind, müßte angenommen werden, daß in allen gleichaltrigen Tieren in übereinstimmender Häufigkeit Spindelstörungen ablaufen.

Dies würde aber bedeuten, daß die Anaphasestörungen dann gerichtet erfolgen müßten und eine derartig gerichtete Anomalie, die auf die Ausbildung bestimmter Polyploidiegrade bzw. Chromosomenzahlen hinzielt, ist bisher noch nicht nachgewiesen.

Es muß an dieser Stelle jedoch erwähnt werden, daß es einige Sonderfälle im Tierreich gibt, in denen in der Anaphase ganz bestimmte Chromosomenzahlen abgegliedert werden. Es sind dies die Fälle der chromosomalen Keimbahnbestimmung, bei denen die Ausgangszahl der Chromosomen des Soma herabgesetzt wird. So untersuchte REITBERGER (1940) die Chromosomenverhältnisse des pädogenetisch-parthenogenetischen Entwicklungszyklus der heterogenen Gallmücke *Oligarces paradoxus* MEIN. und stellt dabei fest, daß in der Keimbahn die Chromosomenzahl 66 beibehalten wird, während die somatische Grundzahl dagegen nur 10 beträgt und als diploid anzusehen ist. Die Zahlenverminderung von 66 auf 10 Chromosomen wird in 2 Schritten vollzogen. Beim 1. Schritt werden 55 Chromosomen nicht in die Tochterkerne einbezogen, letztere enthalten daher nur 11 Chromosomen. Bei der darauffolgenden 2. Elimination wird ein weiteres Chromosom ausgeschlossen, wodurch die Grundzahl von 10 Chromosomen erreicht wird. REITBERGER konnte nun die einzelnen Eliminationsschritte zeitlich genau festlegen und zeigen, daß der 1. Schritt während der Anaphase der dritten Furchungsteilung bei den vorderen 3 der im Ei hintereinander liegenden 4 Furchungskerne erfolgt. Auffallend ist dabei, daß bei der Eliminationsteilung bis zu Beginn der entscheidenden Anaphase kein Unterschied gegenüber den sich normal verhaltenden Teilungen festzustellen ist. Der 2. Eliminationsschritt liegt zwischen der 6. und 8. Furchungsteilung. Durch ihn wird in den Kernen mit 11 Chromosomen ein bestimmtes Chromosom ausgeschieden, so daß die Chromosomenzahl in den betreffenden Kernen nun 10 beträgt. Ob es sich bei den 10 ins Soma eingehenden Chromosomen immer um ganz bestimmte Chromosomen handelt oder ob diese eine beliebige diploide Gruppe darstellen, ist noch nicht untersucht.

In den Sonderfällen der chromosomalen Keimbahnbestimmung kann es also zu einer gerichteten Ausbildung bestimmter Chromosomenzahlen durch die Anaphase kommen. In normalen tierischen Geweben jedoch, an denen die oben erwähnten Untersuchungen durchgeführt wurden, werden für abweichende Chromosomenzahlen Spidelanomalien verantwortlich gemacht. Betrachtet man diese Anomalien aber näher, so stellt man fest, daß die in dieser Richtung angesetzten quantitativen Untersuchungen der Anaphasenanomalien sehr spärlich sind und damit im Gegensatz zu den obigen Angaben stehen. Wir haben die Spindelstörungen in den Mitosen der Rattenleber besonders aufmerksam untersucht und können daher auch die oben erhobenen Erwägungen praktisch überprüfen. Aus den Untersuchungen von MARQUARDT und GLÄSS (im Druck) geht klar hervor, daß durch Spindelstörungen keine der oben

geforderten Bedingungen für das Zustandekommen der verschiedenen Polyploidiestufen erfüllt ist. Die Anzahl der Anaphasen mit multipolaren Spindelbildungen reicht bei weitem nicht aus, um derartige umfangreiche Veränderungen im Kerngefüge hervorzurufen und ein Mitosemuster aufzubauen. Brückenbildungen und Verklebungen sowie Fehlverteilung von Chromosomen treten nur sehr selten auf, so daß für aneuploide Stadien, die in jungen Tieren immerhin bereits 14% aller getesteten Mitosen umfassen, auf Grund der Theorie der Anaphasestörung erst recht keine Erklärungsmöglichkeit gefunden wird. Auch die gleichgerichtete Variation des Mitosemusters mit steigendem Alter ist durch Mitoseanomalien nicht interpretierbar, obwohl die Anzahl der multipolaren Spindelbildungen mit steigendem Alter zunimmt. Die beobachteten Werte sind jedoch auch hier viel zu gering, um z. B. bei erwachsenen Tieren neben den durch Endomitosen erklärbaren Polyploidiegraden weitere 24% polyploide und 12% aneuploide Kerne auszubilden. Unsere Ausführungen zeigen, wie zweifelhaft die Rolle der Spindelstörungen bei der Ausbildung des Kernmusters der Rattenleber ist und daß eine Verschiebung der Polyploidie- und Aneuploidiegrade in Abhängigkeit vom Alter durch Anaphaseanomalien nicht erklärbar ist.

Wir kommen daher zu dem Schluß, daß es auf Grund von Mitoseanomalien bzw. Anaphasestörungen nicht möglich ist, die Zusammensetzung sowie den Wechsel im Kernmuster der Rattenleber zu interpretieren.

3. Genomsonderung und Polyploidie

Wir haben im experimentellen Teil festgestellt, daß die Genomsonderung ein konstantes Merkmal der unbehandelten Rattenleber ist und in enger Beziehung zur Polyploidie steht, indem mit steigender Ploidiestufe auch die Anzahl der Zellen mit Genomsonderung ansteigt. Von besonderem Interesse ist es daher, sich über die Rolle der Genomsonderung bei der Ausbildung des Mitosemusters der Rattenleber bzw. deren Polyploidie Gedanken zu machen. Es ist schon seit einiger Zeit bekannt, daß in der Rattenleber ein Kernmuster vorhanden ist, das sich aus verschiedenen ploidien Zellen zusammensetzt (CLARA 1925, 1931, MÜNZER 1925, JAKOB 1925, 1941, BIESELE 1944 u. a.). Seit der Entdeckung einer inneren Teilung der Chromosomen ohne Spindelbildung durch GEITLER (1939, 1948) wurde dieser als Endomitose bezeichnete Teilungsmodus in vielen pflanzlichen und tierischen Geweben nachgewiesen und für die Entstehung der Polyploidie allgemein herangezogen. Es darf als sicher angesehen werden, daß Endomitosen auch in der Rattenleber auftreten (WINGE 1930, GEITLER 1953, LEVAN und HAUSKA 1953, TJIO und LEVAN 1954, GRUNDMANN 1954, HOMAN 1954, FRITZ-NIGGLI 1955, LEVAN 1956). Ausgehend von diploiden Kernen

werden nach der bisher geläufigen Auffassung auf endomitotischem Wege die Kerne polyploid. Durch Endomitosen können aber nur geradzählige Polyploidiestufen — $2n$ — $4n$ — $8n$ usw. — gebildet werden; Endomitosen allein kommen daher für die Ausbildung des komplexeren Kernmusters der Rattenleber nur bedingt in Betracht. Auch eine Beteiligung der Anaphasestörungen ist den Ausführungen im vorhergehenden Kapitel nach sehr unwahrscheinlich.

Durch Endomitosen kommt es zu einer Verdoppelung der Chromosomenzahl, wobei die Tochterchromosomen — durch das Fehlen der Anaphasespindel bedingt — im allgemeinen nebeneinander liegen bleiben, so daß sich in tetraploiden Stadien häufig Zweier-Gruppen von Chromosomen, in oktaploiden Kernen dagegen Vierer-Gruppen auffinden lassen. In den von uns untersuchten Mitosen finden wir jedoch keine derartige Anordnung von Zweier- bzw. Vierer-Gruppen. Je nach Polyploidiegrad sind die Chromosomen in zwei oder mehr Gruppen gesondert, so daß die betreffende Metaphase in voneinander getrennte Chromosomenareale aufgeteilt erscheint. Da nachgewiesen werden konnte, daß es sich bei dieser Chromosomengruppierung fast immer um ganze Genome handelt (GLÄSS 1956), bezeichneten wir diesen Zustand ja als Genomsonderung. Bereits in diploiden Metaphasen können je zwei haploide Chromosomensätze räumlich voneinander getrennt sein, und für polyploide Kerne gilt dies in verstärktem Maße. Voraussetzung für eine derartige Sonderung von Genomen ist aber, daß in den entsprechenden Kernen im Laufe der Mitose Bewegungsvorgänge ablaufen, die zu dieser räumlichen Trennung der Chromosomen führen. Je nachdem, wie diese Bewegungsvorgänge verlaufen, kommt es zu einer verschiedenen Anordnung der Genome bzw. Chromosomengruppen in den Kernen, wie es die verschiedenen Kombinationsmöglichkeiten der Genomsonderung deutlich gezeigt haben. Dadurch ist aber die Möglichkeit gegeben, die Genomsonderung mit der Ausbildung des Kernmusters der Rattenleber in Verbindung zu bringen.

Die erste Möglichkeit, daß sich die polyploiden Kerne normal teilen, bringt keine Veränderung des Mitosemusters, es bleibt alles wie zuvor. Eine weitere Möglichkeit, daß Anaphasestörungen an der Ausbildung von polyploiden und aneuploiden Kernen beteiligt sind und dadurch das Mitosemuster ausbilden bzw. verändern, konnte bereits — wie oben gezeigt — als nicht realisierbar abgelehnt werden.

Die dritte Möglichkeit, ein Kernmuster aufzubauen, ergibt sich dann, wenn sich polyploide Kerne, die in irgendeiner Form eine Genomsonderung enthalten, amitotisch durchschnüren. Daß in der Leber Amitosen vorkommen, wird von mehreren Forschern berichtet (BENNINGHOFF 1922, STÄMMLER 1928, WASSERMANN 1928, CLARA 1931, BRUES und MARBLE 1937, GRUNDMANN 1954 u. a.). Auch das Vorkommen von

zweikernigen Zellen in der Rattenleber (BEAMS und KING 1942, AUBIN und BUCHER 1952, MARQUARDT und GLÄSS, im Druck, u. a.) weist darauf hin, deren Zustandekommen im allgemeinen auf amitotische Kerndurchschnürungen zurückgeführt wird (MÜNZER 1925, CLARA 1931, JAKOBY 1941, BUCHER 1953).

Wenn wir als Amitose eine einfache äquale Kerndurchschnürung ansehen, so können durch diese Abtrennung gleich große Chromatinsmengen voneinander gesondert werden. Da diese Amitose aber in einem polyploiden Kern vor sich geht, dessen Chromosomen zu Chromosomengruppen bzw. Genomen vereint und diese Genome räumlich voneinander getrennt sind, ist es möglich, daß durch die amitotische Kerndurchschnürung ganze Genome voneinander abgetrennt werden. Da nun aber in Kernen mit Genomsonderung nicht nur 2 Einzelgenome, sondern auch Chromosomengruppen verschiedenen Ploidiegrades voneinander gesondert werden (Tabelle 1), kann es durch derartige amitotische Kerndurchschnürungen außerdem zur Bildung von aneuploiden Kernen kommen. Die Bedeutung der Genomsonderung kann also einmal darin liegen, daß durch sie eine Trennung von ganzen Genomen oder sonstiger Chromosomengruppen ermöglicht wird. Die Amitose stellt in der beschriebenen Form demnach eine gesetzmäßige Herabregulierung hochpolyploider Chromosomenzahlen auf niedriploidere dar. Durch die Genomsonderung besteht zumindest die Tendenz zu einer derartigen Herabregulierung, da mit steigendem Polyploidiegrad auch der Prozentsatz der Zellen mit Genomsonderung ansteigt. Ebenso wie auf endomitotischem Wege eine Hochregulierung von diploiden zu polyploiden Kernen erfolgt, kann in Kernen mit Genomsonderung, in denen eine amitotische Kerndurchschnürung vor sich geht, in umgekehrter Richtung eine Herabregulierung, d. h. eine Depolyploidisierung in die Wege geleitet werden. Hierfür spricht vor allem die Tatsache, daß in allen von uns untersuchten Tieren eine ganze Anzahl von *haploiden* Kernen auftritt, die *nur* durch eine Herabregulierung der Chromosomenzahl höher ploidere Kerne entstanden sein können. Obwohl allein schon das Vorkommen von Haploiden in der Rattenleber bemerkenswert ist, kommt noch als besonders beachtenswert hinzu, daß sich ihre Anzahl im Gegensatz zu allen anderen Polyploidiestufen weder durch das Alter noch durch verstärkte Hepatektomie, noch durch Behandlung mit cancerogenen Stoffen (GLÄSS und MARQUARDT, unveröff.) verändert.

Es muß an dieser Stelle auf die Arbeiten von SUOMALAINEN (1940, 1947) eingegangen werden, dessen Ergebnisse ebenfalls für eine Herabregulierung der Chromosomenzahl durch die Genomsonderung sprechen. SUOMALAINEN untersuchte verschiedene bisexuelle und parthenogenetische Arten von Rüsselkäfern. Bei den bisexuellen Arten stellte er allgemein den diploiden Chromosomensatz von 22 Chromosomen fest, der durch 2 normale Reifungsteilungen zustande kommt. Bei den parthenogenetischen Arten dagegen fand SUOMALAINEN allgemein nur eine

Reifungsteilung, eine Äquationsteilung; die Chromosomenreduktion findet daher bei diesen parthenogenetischen Arten nicht statt. Die diploiden, parthenogenetischen Arten verhalten sich wie die bisexualen. Bei den polyploiden Arten dagegen (tri- und tetraploid) stellte SUOMALAINEN in der Metaphase dieser *einen* Reifungsteilung eine Art von Gonomerie (Genomsonderung nach BAUER 1943) fest, indem die Chromosomen z. B. in 2 Gruppen von je 22 Chromosomen oder in 2 Gruppen zu 33 und 11 Chromosomen zusammenlagen. Das Besondere dieser Vorgänge liegt hier darin, daß an Stelle der normalen Meiosis — und *nur* an dieser Stelle — eine Herabregulierung der Chromosomenzahl auf eine Art und Weise erfolgt, wie wir es auf Grund unseres Materials auch in den Mitosen der Leberzellen, möglicherweise als weit verbreiteten Vorgang, beobachten konnten.

Wenn die Genomsonderung aber die Voraussetzung zu einer Herabregulierung polyploider Kerne darstellt, so ist damit auch eine Interpretationsmöglichkeit für die Entstehung tri- und pentaploider Kerne gegeben, deren Zustandekommen bisher nicht geklärt werden konnte. In tetraploiden Kernen z. B. können theoretisch 11 verschiedene Kombinationsmöglichkeiten der Genomsonderung auftreten. Wir haben 75 tetraploide Metaphasen untersucht und dabei folgende 7 Genomkombinationen festgestellt: 84, 63:21, 42:42, 42:21:21, 21:21:21:21, 42:21:11:10, 21:21:21:11:10.

Wir ersehen daraus, daß allein schon in Metaphasen mit 84 Chromosomen eine durchaus verschiedenartige Herabregulierung der Polyploidie auf geringere Stufen erreicht werden kann und daß so neue Kerne mit anderen Chromosomenzahlen entstehen können wie haploide, di- und triploide.

Bei den oben angeführten Genomkombinationen in tetraploiden Kernen haben wir in den beiden letzten dargestellten Kombinationen bereits 2 Beispiele dafür, wie durch die weitere Untergliederung eines haploiden Chromosomensatzes gewisse aneuploide Chromosomenzahlen zustandekommen können. Da diese Sonderung in 2 Gruppen zu 11 und 10 Chromosomen aber in allen Polyploidiegraden vor sich gehen kann, ergibt sich hieraus eine gewisse Variabilität für die Ausbildung aneuploider Kerne. Diese Variabilität wird noch dadurch erhöht, daß neben einer Sonderung in ganze Genome auch eine — allerdings geringe — Sonderung in aneuploide Chromosomengruppen auftritt (s. Tabelle 2).

Genau dieselben polyploiden und aneuploiden Kerne, die hier durch Herabregulierung der Chromosomenzahlen auf der Basis der Genomsonderung entstehen, können auch auf einem anderen Wege zustandekommen; auch er erfordert jedoch die Genomsonderung als Voraussetzung. Wir haben gesehen, daß diploide Kerne auf endomitotischem Wege polyploid werden und daß dabei die Chromosomenzahl in bestimmter Weise erhöht wird. Nehmen wir an, daß in Kernen mit Genomsonderung auch Endomitosen ablaufen können, so wäre es möglich, daß die endomitotische Vervielfältigung nur in *einem*, bereits abgesonderten Chromosomenareal vor sich geht, während die Chromosomen im übrigen Teil des Kernes ungeteilt bleiben. Es wäre z. B.

möglich, daß in einem diploiden Kern eine Genomsonderung in die beiden haploiden Chromosomensätze vorliegt. Wenn nun nur in einem der beiden haploiden Genome eine Endomitose abläuft, so würde es dadurch zur Bildung eines triploiden Kernes kommen. Liegt nun aber eine Genomsonderung nach dem Schema 21:11:10 vor und erfolgt die endomitotische Vervielfachung z. B. nur in der Chromosomengruppe mit 11 Chromosomen, so ergibt sich daraus ein aneuploider Kern. Da diese partiellen Endomitosen aber nicht nur in diploiden, sondern in allen polyploiden Kernen — auch in aneuploiden — ablaufen können, ergibt sich auch auf diesem Wege durch *Hochregulierung* eine Interpretationsmöglichkeit für die Ausbildung des komplexeren Kernmusters der Rattenleber. Wir erhalten also auch auf dem Wege der partiellen Endomitose in Kernen mit Genomsonderung durch Aufregulierung dieselben Effekte, wie wir sie bereits bei amitotischer Kerndurchschnürung in Kernen mit Genomsonderung durch Herabregulierung festgestellt haben.

Zusammenfassend läßt sich folgendes sagen: Die Genomsonderung scheint die entscheidende Voraussetzung dafür zu sein, daß in polyploiden Kernen Vorgänge ablaufen, die zu einer Veränderung der Chromosomenzahl führen können. Diese Veränderung kann einmal durch eine Herabregulierung der Chromosomenzahl durch amitotische Kerndurchschnürung zustande kommen, die in Kernen mit Genomsonderung vor sich geht. Genau dieselben Ergebnisse werden aber auch durch eine Aufregulierung der Chromosomenzahl durch partielle Endomitosen erreicht, die nur in *einem* Chromosomenareal eines Kernes mit Genomsonderung ablaufen. Durch diese Vorgänge haben wir eine Interpretationsmöglichkeit für die Entstehung von tri-, penta- und aneuploiden Kernen gefunden. Mit Hilfe der Genomsonderung haben wir im Gewebe höherer Säugetiere erstmals eine Vorstellung entwickeln können, die das Zustandekommen des für die Rattenleber komplexeren Kern- bzw. Mitosemusters sowie die Variation seiner Polyploidiegrade mit steigendem Alter ermöglicht.

Zusammenfassung

1. In den Mitosen der Leber neugeborener, junger und erwachsener Ratten wurde ein als Genomsonderung bezeichnetes Phänomen nachgewiesen. Durch besondere Bewegungsvorgänge der Chromosomen können — je nach Polyploidiestufe der betreffenden Kerne — ein oder mehrere Genome bzw. Chromosomengruppen voneinander räumlich gesondert werden.

2. Auch der haploide Chromosomensatz ($n = 21$) kann eine Sonderung aufweisen, durch die der Karyotyp in 2 Chromosomengruppen von 11 und 10 Chromosomen aufgeteilt wird. Diese Halbierung des haploiden Chromosomensatzes findet sich nicht nur bei haploiden Mitosen, sondern in allen Polyploidiestufen und wird daher ebenfalls als Genomsonderung bezeichnet.

3. Die Kombinationen der Genomsonderung in den einzelnen Polyploidiestufen werden ermittelt und den verschiedenen theoretischen Kombinationsmöglichkeiten gegenübergestellt. Es zeigt sich, daß bestimmte Kombinationen besonders bevorzugt werden. In diploiden Kernen wird meist nach Einzelgenomen gesondert, in polyploiden vorwiegend nach diploiden Chromosomenzahlen, seltener dagegen nach Einzelgenomen.

4. Die Genomsonderung findet sich einheitlich in allen Teilen der Leber, in allen Tieren und Altersstufen und ist als konstantes Merkmal der normalen Rattenleber zu betrachten. Die Tiere einer Altersstufe sind hinsichtlich ihres Mitosemusters ebenso wie im Hinblick auf die Anzahl der Zellen mit Genomsonderung als homogen anzusehen.

5. Die Anzahl der Zellen mit Genomsonderung wird nur bei haploiden Kernen vom Alter beeinflusst. Eine Einwirkung des Alters scheint auch zwischen 12 Std und 6 Tage alten Tieren vorzuliegen, da bei letzteren die Anzahl der Zellen mit Genomsonderung in allen Polyploidiestufen höher ist als die bei Neugeborenen.

6. In allen Altersstufen findet sich folgende Korrelation: Je höher die Polyploidiestufe, desto höher der Prozentsatz an Zellen mit Genomsonderung.

7. Auf Grund unserer Beobachtungen ist es nicht möglich, den Zeitpunkt der Genomsonderung exakt festzustellen. Es wird vermutet, daß die räumliche Trennung der Genome bzw. Chromosomengruppen zu Beginn oder am Ende einer Mitose vor sich geht.

8. Die Zahl der Anaphasen mit Verteilungsstörungen reicht bei weitem nicht aus, um die verschiedenen vom Endomitosezyklus abweichenden Chromosomenzahlen zu erklären.

9. In der Diskussion wird in der Genomsonderung — vor allem polyploider Kerne — eine Möglichkeit gesehen, einmal durch Amitosen ungeradzahlige Polyploidiestufen und aneuploide Chromosomenzahlen zu erhalten, zum anderen durch partielle Endomitose nur einer Chromosomengruppe eines Zellkerns zu einem ähnlichen Effekt zu gelangen.

Literatur

- D'AMATO, FR.: Polyploidie in the differentiation and funktion of tissues and cell in plant. A critical examination of the literature. *Caryologia* (Pisa) 4, 311—358 (1952). — AUBIN, P. M., and M. L. R. BUCHER: A study of binucleat cell counts in resting and regenerating rat liver employing a method for the separation of liver cells. *Anat. Rec.* 112, 797—806 (1952). — BAUER, H.: Chromosomenforschung. *Fortachr. Zool.* 7, 256—287 (1943). — BEAMS, H. W., and R. L. KING: The origin of binucleate and large mononucleate cells in the liver of rat. *Anat. Rec.* 83, 281 bis 295 (1942). — BENNINGHOFF, A.: Zur Kenntnis und Bedeutung der Amitose und amitotischer Vorgänge. *Sitzgsber. Ges. Naturwiss. Marburg* 1922. — BERGER, C. A.: Additional evidence of repeat chromosome division without mitotic activity. *Amer. Naturalist* 14, 187—190 (1937). — Multiplication and reduction of

somatic chromosome groups as a regular developmental process in the mosquito, *Culex pipiens*. Carnegie Inst. Publ. 496, 1938, 209—232. — BIESELE, J. J.: Chromosome complexity in regenerating rat liver. Cancer Res. 4, 232—235 (1944). BOVARI, TH.: Über mehrpolige Mitosen als Mittel zur Analyse des Zellkerns. Würzburg 1902. — BRUES, I. M., and B. B. MARBLE: An analysis of mitosis in liver restoration. J. of Exper. Med. 65, 15 (1937). — BUCHER, O.: Karyometrische Untersuchungen an 2-kernigen Zellen von Bindegewebskulturen. Anat. Anz. Erg.-H. 100, 197—203 (1953). — CLARA, M.: Untersuchungen an der menschlichen Leber. II. Teil. Über die Kerngrößen in den Leberzellen. Zugleich über Amitose und über das Wachstum der „stabilen Elemente“. Z. mikrosk.-anat. Forsch. 22, 145—219 (1925). — Über den Bau der Leber beim Kaninchen und die Regenerationserscheinungen an diesem Gewebe bei experimenteller Phosphorvergiftung. Z. mikrosk.-anat. Forsch. 26, 45—172 (1931). — EILERS, W.: Somatische Kernteilungen bei Coleopteren. Z. Zellforsch. 2, 593—650 (1925). — EWALD, O.: Über atypische Mitosen im Kiemenblättchen der Salamanderlarve. Frankf. Z. Path. 23, 1—16 (1920). — FARMER, I. B., I. E. S. MOORE and C. E. WALKER: On the resemblances exhibited between the cells of malignant growth in man and those of normal reproduction tissue. Proc. Roy. Soc. Lond., Ser. B 72, 499—504 (1904). — On the cytology of malignant growth Proc. Roy. Soc. Lond., Ser. B 77, 336—353 (1906). — FRITZ-NIGGLI, H.: Analyse menschlicher Chromosomen. I. Karyotyp eines Mamma Karzinoms. Schweiz. Z. Path. u. Bakter. 17, 340—351 (1954). — Chromosomenanalyse bei Karzinomen des Menschen. Oncologia (Basel) 8, 121—135 (1955). — GEITLER, L.: Die Entstehung der polyploiden Somakerne der Heteropteren durch Chromosomenteilung ohne Kernteilung. Chromosoma 1, 1—22 (1939). — Ergebnisse und Probleme der Endomitoseforschung. Österr. bot. Z. 95, 277—299 (1949). — Endomitose und endomitotische Polyploidisierung. In Protoplasmatologia, Bd. VI C. 1953. — GLÄSS, E.: Die Identifizierung der Chromosomen im Karyotyp der Rattenleber. Chromosoma 7, 655—669 (1956). — Das Auftreten aneuploider Chromosomenzahlen in den Mitosen unbehandelter Rattenleber. Im Druck. — GRELL, K. G.: Die Entwicklung der Makronucleusanlage im Exkonjuganten von *Ephelota gemmipara* R. HERTWIG. Biol. Zbl. 63, 289—312 (1949). — Der Kerndualismus der Ciliaten und Suctorien. Naturwiss. 37, 347—356 (1950). — Die Chromosomen von *Aulacantha scolymantha* HACKEL. Arch. Protistenkunde 99, 1—54 (1953). — GRUNDMANN, E.: Beiträge zur Krebsentstehung in der Rattenleber an Hand von mikrophotometrischen DNS-Messungen. Verh. dtsch. Ges. Path. (38. Tagg) 1954, 362—370. — HANSEMAN, D. v.: Über pathologische Mitosen. Arch. path. Anat. u. Phys. 1891, 123. — Studien über die Spezifität, Altruismus und Anaplasie der Zellen. 1893. Zit. nach KARLUS 1930. — HOMAN, W.: Endomitotische Teilungsvorgänge in bösartigen Geschwülsten. Ärtzl. Forsch. 8, 161—164 (1954). — HSU, T. C.: Mammalian chromosomes in vitro. I. The karyotyp of man. J. Hered. 43, 167—172 (1952). — Hsu, T. C., and C. M. POMERAT: Mammalian chromosomes in vitro. III. On somatic aneuploidie. J. of Morph. 93, 301—319 (1953). — HUSKINS, C. L.: Chromosome multiplication and reduction in somatic tissues: their possible relation to differentiation, „reversion“ and sex. Nature (Lond.) 17, 161 (1948). — Segregation and reduction in somatic tissues. J. Hered. 39, 310—325 (1948). — HUSKINS, C. L., and K. C. CHENG: Segregation and reduction in somatic tissues. IV. Reductional groupings induced in *Allium cepa* by low temperature. J. Hered. 41, 13—18 (1950). — JAKOBS, W.: Über das rhythmische Wachstum der Zellen durch Verdoppelung ihres Volumens. Beitrag X zur synthetischen Morphologie. Roux' Arch. 106, 124—192 (1925). — Die verschiedenen Arten des gesetzmäßigen Zellwachstums und ihre Beziehung zu Zellfunktion, Umwelt, Krankheit, maligner Geschwulstbildung und innerem Bauplan. Roux' Arch. 141, 584—692 (1941). — KARLUS, H.: Ein Beitrag

zur Kenntnis der somatischen Mitose beim Menschen. Z. Zellforsch. 10, 38—52 (1930). — LEVAN, A.: Chromosomes in cancer tissue. Ann. New York Acad. Sci. 63, 774—789 (1956). — LEVAN, A., and TH. S. HAUSKA: Endomitotic reduplication mechanism in ascites tumors of the mouse. J. Nat. Canc. Inst. 14, 1—43 (1953). LIPP, CHR.: Über Kernwachstum, Endomitosen und Funktionszyklen in den trichogenen Zellen von *Coriza punctata* ILLIG. Chromosoma 5, 454—486 (1953). — MAKINO, S., and T. C. HSU: Mammalian chromosomes in vitro. V. The somatic complement of the *Norway rattus Norvegicus*. Cytologia 19, 23—28 (1954). — MAKINO, S., and T. TANAKA: Chromosome features in the regenerating rat liver following partial extirpation. Texas Rep. Biol. a. Med. 11, 588—592 (1953). — MARQUARDT, H., u. E. GLÄSS: Die Chromosomenzahlen in den Leberzellen von Ratten verschiedenen Alters. Im Druck. — MELANDER, Y.: Chromosome behaviour of a triploid adult rabbit. An product by HÄGGUIST and BANA after colchicine treatment. Hereditas (Lund) 36, 335—341 (1952). — MENZEL, M. J.: Polygenomic hybrids in *Gossypium*. III. Somatic reductions in amphenuotically altered branch of a three-species hexaploid. Amer. J. Bot. 39, 625—633 (1952). — MENZEL, M. J., and M. S. BROWN: Polygenomic hybrids in *Gossypium*. II. Mosaik formation and somatic reduction. Amer. J. Bot. 39, 59—68 (1952). — MÜNZER, F. TH.: Experimentelle Studien über die Zweikernigkeit der Leberzellen. Arch. mikrosk. Anat. 104, 138—184 (1925). — PATAU, K.: A correlation between separation of the two chromosome groups in somatic reduction and their degree of homologous segregation. Genetics 35, 128 (1950). — REITBERGER, A.: Die Cytologie des pädogenetischen Entwicklungszyklus der Gallmücke *Oligarces paradoxus* MEIN. Chromosoma 1, 391—473 (1940). — SNOAD, B.: Somatic instability of chromosome number in *Hymenocallus calathinum*. Hereditas (Lond.) 54, 129—134 (1955). — SOKOLOV, I.: Untersuchungen über die Spermatogenese bei Arachniden. IV. Über die Spermatogenese der Phalangiden (Opiliones). Z. Zellforsch. 10, 164—194 (1930). — STÄMMLER, O.: Physiologische und pathologische Regeneration. Arch. klin. Chir. 153, 550—570 (1928). — STRASBURGER, E.: Zellbildung und Zellteilung. 3. Aufl. Jena: Gustav Fischer 1880. — SUOMALAINEN, E.: Beiträge zur Zytologie der parthenogenetischen Insekten. I. *Coleoptera*. Ann. Acad. Sci. fenn., Ser. A. 54, 7—143 (1940). — Parthenogenese und Polyploidie bei Rüsselkäfern (*Curculionidae*). Hereditas (Lund) 33, 425—456 (1947). — TANAKA, T.: A study of the somatic chromosomes of rats. Cytologia 18, 343—355 (1953). — THERMAN, E., u. S. TIMONEN: Inconstancy of the human somatic chromosome complement. Hereditas (Lund) 37, 266—279 (1951). — TISCHLER, G.: Allgemeine Pflanzenkaryologie. 2. Hälfte. Kernteilung und Kernverschmelzung. In Handb. der Pflanzenanatomie, Bd. II, S. 309—352. 1951. — TJIO, I. H., u. A. LEVAN: Chromosome analysis of three hyperdiploid ascites tumours of the mouse. Lunds Univ. Årsskr., N. F. Adv. 2, 50 (1954). — WALKER, H., and E. R. BOOTHROYD: Chromosome numbers in somatic tissues of mouse and man. Genetics 39, 210—219 (1954). — WASSERMANN, F.: Wachstum und Vermehrung der lebendigen Masse. In Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Bd. 1, Teil 2. 1928. — WIEMANN, A.: Chromosomes in man. Amer. J. Anat. 14, 461—471 (1912/13). — WILSON, G. B., and K. C. CHENG: Segregation and reduction in somatic tissues. II. The separation of homologous chromosomes in *Trillium* species. J. Hered. 40, 1—6 (1949). — WILSON, G. B., M. E. HAWTHORNE and T. M. TSOU: Spontaneous and induced variations in mitosis. J. Hered. 42, 183—189 (1951). — WINGE, O.: Zytologische Untersuchungen über die Natur maligner Tumoren. II. Teerkarzinome bei Mäusen. Z. Zellforsch. 10, 62—89 (1930).

Aus dem Zoologischen Institut (Vorstand: Prof. Dr. H. AUTRUM)
und dem Institut für Angewandte Zoologie (Vorstand: Prof. Dr. K. GÖSSWALD)
der Universität Würzburg

ENDOMITOSE UND POLYTÄNIE IN DEN NÄHRZELLKERNEN VON CALLIPHORA ERYTHROCEPHALA MEIGEN

Von

KARLHEINZ BIER

Mit 23 Textabbildungen

(Eingegangen am 17. November 1956)

Inhaltsverzeichnis

| | Seite |
|---|-------|
| I. Einleitung und Problemstellung | 493 |
| II. Material und Methoden | 494 |
| III. Das Wachstum der Nährzellkerne | 495 |
| 1. Herausbildung der primären Polytänchromosomen | 495 |
| 2. Zerfall der Polytänchromosomen | 498 |
| 3. Wachstum der retikulären Nährzellkerne | 501 |
| 4. Die letzte Wachstumsphase der Nährzellkerne (Bildung oligotäner Fibrillen) | 502 |
| IV. Riesenchromosomen in alten Nährzellkernen | 503 |
| 1. Identifizierung der Riesenchromosomen | 505 |
| 2. Sind die Riesenchromosomen herangewachsene primäre Polytänchromosomen oder durch Konjugation neu entstanden? | 508 |
| 3. Die Lage der Homologen im retikulären Nährzellkern als Vorbedingung der Konjugationsvorgänge | 511 |
| V. Ein Vergleich mit <i>Drosophila melanogaster</i> | 513 |
| VI. Erörterungen | 517 |
| Zusammenfassung | 520 |
| Literatur | 521 |

I. Einleitung und Problemstellung

Die polytänen Chromosomen in den Nährzellkernen mancher Musciden gehen auf einem frühen Stadium des Kernwachstums durch Zerfall in zahlreiche Einzelelemente unter Ausbildung typischer Endomitosen zur retikulären Struktur über (BAUER 1938a, 1953). Diese Vorgänge bilden eine Stütze für die Polytänielehre in ihrer einfachen und ursprünglichen Form, die in den Riesenchromosomen nichts anderes sieht als endomitotisch vermehrte, exakt gebündelte Chromosomen polyploider Kerne, weil sie, ähnlich wie die Aufzweigung der Polytänchromosomen in den Balbiani-Ringen, den multiplen Bau der Riesenchromosomen unter natürlichen Bedingungen zeigen (BAUER und BEERMANN 1952).

Bei der Fortführung von Untersuchungen über den Einfluß der Nährzellen auf die Dotterbildung und Entwicklungspotenz des Eies

fanden sich in einem geringen Prozentsatz der Nährzellkerne (NZK) von *Calliphora erythrocephala* MEIG. auf einem fortgeschrittenen Stadium, in welchem sonst die Kernstruktur retikulär ist, Riesenchromosomen beachtlicher Größe. Die überwiegende Anzahl der NZK besaß jedoch einen Bau, der gleichermaßen vom typischen polytänen wie auch retikulären Bilde abwich. Entweder liefen in diesen Kernen zum Zeitpunkt der Fixation mehr oder weniger fortgeschrittene Chromosomenpaarungen ab oder es handelte sich um Zerfallsstadien überdauernder Riesenchromosomen. Auf Grund der morphologischen Analyse allein war es nicht möglich, zwischen diesen Alternativen zu entscheiden. Übergänge vom polytänen zum retikulären Zustand sind außer in den Nährzellkernen einiger Calyptraten bei mehreren Nematocerenarten gefunden worden (WHITE 1946, 1948, MAINX 1949). Eine Andeutung von Chromosomenbündelung zeigen auch die NZK von *Drosophila* während der frühen Endomitosezyklen (PAINTER und REINDORF 1939). Neuerdings sind an pflanzlichen Objekten, es handelt sich um die Riesenkerne der Antipoden von *Papaver rhoeas* und verschiedenen *Aconitum*-Arten, neben retikulären und Chromozentrenkernen auch solche mit Chromosomenbündeln gefunden worden (HASITSCHKA 1956, TSCHERMAK-WOESS 1956). Über das Zustandekommen der verschiedenen Kernstrukturen geben die Untersuchungen noch keinen Aufschluß.

Um in die Entstehung der unterschiedlichen Chromosomenanordnungen und in die Natur der Chromosomenbündelungen in den NZK von *Calliphora* einen Einblick zu gewinnen, wurde das Wachstum der Nährfächer von den jüngsten Stadien an bis zu ihrer Degeneration verfolgt.

II. Material und Methoden

Puppen von *Calliphora erythrocephala*, die aus einer Dauerzucht stammten, wurden bei Zimmertemperatur zum Schlüpfen gebracht. Die Fliegen wurden in mit Gaze bespannten Glaszylindern ($h = 19$ cm, $d = 11$ cm) gehalten. Am Boden des Gefäßes befand sich ein Filterpapierstreifen, der aus einer unter dem Zylinder befindlichen Schale ständig Wasser nachsaugen konnte. 10–14 Tage lang nach dem Schlüpfen wurde nur mit Zucker gefüttert. Die Entwicklung der Eier bleibt bei reiner Zuckerfütterung zwischen 20 und 30 μ NZK-Durchmesser stehen. Nach zusätzlicher Fütterung mit eingeweichten Futterhefeflocken reifen die Eier dann in 4–6 Tagen zur Ablage heran. Diese Methode ermöglicht es, die gewünschten Entwicklungsstadien mit einiger Sicherheit zu erhalten. Wenn unmittelbar nach dem Schlüpfen Zucker und Hefe geboten werden, verläuft die Entwicklung sehr uneinheitlich, da die Fliegen erst nach einem bestimmten, individuell stark variierenden Zeitraum Eiweißkost aufnehmen. Nach den bisherigen Ergebnissen hat die Vorschaltung einer Periode reiner Zuckerfütterung außer der Verzögerung des Wachstums keinen Einfluß auf die untersuchten Vorgänge im NZK.

Die Ausbildung der Ovarien wurde bei *Drosophila melanogaster* in ähnlicher Weise beeinflusst wie bei *Calliphora*. Die Zuchtgefäße, die den üblichen, aus Maischrot, Zucker und Agar bestehenden Boden enthielten, wurden vor dem Einsetzen der Elterntiere mit Hefe beimpft. Die Zucht erfolgte bei Zimmertemperatur. Nach 30–40 Tagen wurde, wenn reichlich Fliegen geschlüpft waren, ein 2. Mal

Hefe zugegeben. 24–36 Std später enthielten die Ovarien maximal große Nährzellkerne.

Die beiden Eierstöcke eines Tieres entwickeln sich gleichmäßig, auch zytologische Details stimmen überein. Da bei den Untersuchungen auch die räumliche Anordnung der Chromosomen interessierte, wurde nur ein Ovar nach der Karmin-Essigsäure-Methode verarbeitet, das andere nach BOVIN-ALLEN (in der Modifikation nach BAUER) oder HELLY fixiert und Paraffinschnittpräparate von 11μ Dicke angefertigt. Diese Präparate wurden in der Regel der Feulgenreaktion unterworfen. Ein geringer Anteil wurde mit Gallocyenin gefärbt zur besseren Darstellung der Nucleolen. Größenangaben beziehen sich, wenn nicht anders vermerkt, auf Paraffinschnittpräparate, die mit HELLYschem Gemisch fixiert wurden.

III. Das Wachstum der Nährzellkerne

VERHEIN (1921) gab eine ausführliche Darstellung des Eiwachstums der Musciden und beschrieb dabei das Auftreten und den Zerfall auffälliger Chromatinfäden, die er als „Rauenchromosomen“ bezeichnete. Für *Calliphora erythrocephala* stellte STRASBURGER (1933) fest, daß die Anzahl dieser voluminösen Chromosomen dem haploiden Satz entspricht und sie sich aus Kernen mit normalem Ruhekerngerüst entwickeln.

1. Herausbildung der primären Polytänchromosomen

Da es sich bei den Rauenchromosomen um echt polytäne Elemente handelt, muß nach den differentiellen Mitosen in den NZK eine Chromosomenvermehrung stattfinden. Oogonienkerne und auch die jüngsten, durch ihre Lage im Nährverbande als NZK gekennzeichneten Nuclei besitzen einen durchschnittlichen Durchmesser von $5,4\mu$. In NZK von $9\text{--}10\mu$ finden erstmals auffällige Veränderungen in der Kernstruktur statt, die den von PAINTER und REINDORF (1939) bei *Drosophila melanogaster* beschriebenen frühen Endomitosezyklen ähneln. Gleich große Kerne mit fein verteiltem und solche mit kondensiertem Chromatin kommen nebeneinander vor und lassen auf einen Endomitoseschritt schließen. Allerdings sind Chromatidenpaare oder die multiple Natur der Bündel (aus volumetrischen Erwägungen heraus müßte es sich bereits um die $4/8n$ Endomitose handeln) nicht zu erkennen (Abb. 1). Anschließend an diesen vermutlichen Endomitosezyklus gehen die NZK wieder in ein Interphasestadium mit mehr oder weniger ausgeprägten Chromozentren über. An stärker gequetschten Kernen dieser Altersstufe läßt sich jetzt bereits das Vorhandensein polytärer Elemente feststellen. Im Schnittpräparat wie auch in weniger stark gequetschten Kernen entziehen sich diese Chromosomenstränge der Darstellung, weil

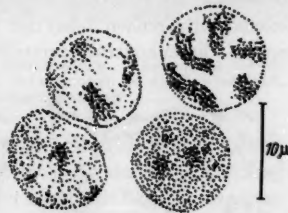


Abb. 1. Erster sichtbarer Endomitosezyklus bei $9\text{--}10\mu$ ø.
Helly, Feulgen

sie nicht wie typische Riesenchromosomen die Beschaffenheit eines mehr oder weniger elastischen Stabes, sondern die einer Gliederkette mit relativ langen, kaum sichtbaren Zwischenstücken haben, die von Gelenk

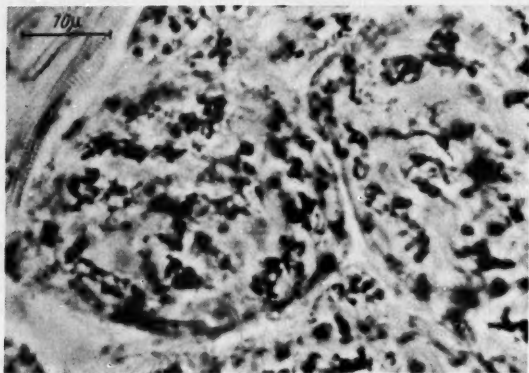


Abb. 2. Kryptopolytane Nährzellkerne. K.E.-Frischpräparat, stark gequetscht, Phako

zu Gelenk die Richtung in allen Dimensionen wechseln können. Die Gelenke entsprechen dabei den Chromozentren, die Längsstücke feinen, nur im Phasenkontrast darstellbaren feulgennegativen Fäden. Starkes

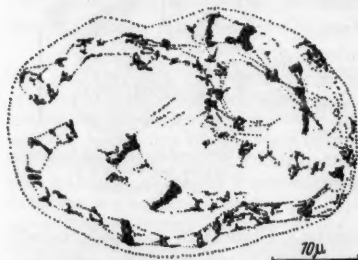


Abb. 3. Nährzellkern wie Abb. 2, in der unteren Kernhälfte ist ein Chromosom durchgehend zu verfolgen

Quetschen bewirkt Einordnung in eine Ebene und die dabei auftretende Ausbreitung auch eine Streckung dieser Chromosomen. Abb. 2 und 3 zeigen solche NZK. Es bleibt allerdings offen, ob der gesamte Chromosomensatz und jedes Chromosom in seiner ganzen Länge in dieser „kryptopolytänen“ Form vorliegt.

Wenn die NZK etwa $11 \mu \varnothing$ messen, werden die Chromozentren zurückgebildet. Die

vielwertigen Chromosomen heben sich nun durchgehend, aber nur schwach und mit diffuser Begrenzung von ihrer Umgebung ab. Sie sind spiralenartig gewunden (Abb. 4a). Die Längselemente scheinen nur locker gepaart und verschieden stark kontrahiert zu sein, denn die den Fibrillen eingelagerten stark färbbaren Grana (Chromomeren) finden nur selten zu eindeutigen Querscheiben zusammen

(Abb. 5a). Eine gewisse Ähnlichkeit mit dem Knäuel- und Spiralstadium der Speicheldrüsenchromosomen (vgl. BEERMANN 1952) ist nicht zu verkennen. Andererseits erinnert der lockere Bau an die in frühen Endomitosezyklen der NZK von *Drosophila* auftretenden Chromatidenbündel.

Durch engere Paarung entsteht der schlankste Zustand der Polytänchromosomen (Abb. 5b). Gestreckte Partien wechseln oft mit solchen, die sich noch im Spiralstadium zu befinden scheinen. Die Phase der

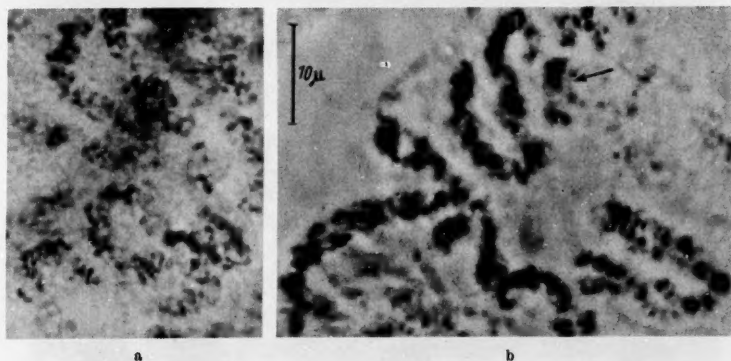


Abb. 4 a u. b. Primäre Polytänchromosomen. a Spiralstadium, b kompletter Satz in haploider Anzahl, nicht vollkommen gepaart. Das X-Chromosom ist durch \rightarrow markiert, darüber befindet sich ein Follikelepithelzellkern

schlanken Polytanie ist nur von kurzer Dauer. Sie fehlt gelegentlich in Nährfächern, in denen ein Teil der NZK noch vor der Herausbildung der Polytänchromosomen steht, andere aber schon das folgende Stadium der Verkürzung und Verdickung erreicht haben. Es muß damit gerechnet werden, daß bei bestimmter Reaktionslage der Fliegen eine enge Paarung und maximale Streckung der Polytänchromosomen überhaupt nicht erfolgt.

In den Präparaten zweier Fliegen trat in einem der längeren Chromosomen eine Paarungslücke auf. An diesen markierten Chromosomen läßt sich andeutungsweise das Vorhandensein eines konstanten Querscheibensmusters zeigen. Die Möglichkeit einer Identifizierung ist aber begrenzt, da Chromosomen gleicher Streckung schwer zu erhalten sind (Abb. 6a). Stets ist das Geschlechtschromosom zu erkennen. Es fällt sowohl durch seine geringe Größe als auch durch einen terminalen heterochromatischen Abschnitt auf (Abb. 4b). Sein euchromatischer Teil neigt dazu, den Autosomen in der Auflösung voranzueilen und ist deshalb besonders selten in gepaartem Zustand zu finden. Die 6 Polytänchromosomen

entsprechen in ihrer relativen Größe einem haploiden bzw. gepaarten diploiden Satz von Meiose- und Mitosechromosomen, wie sie von KEUNEKE (1924) und STRASBURGER (1933) beschrieben wurden (Abb. 4b und 5b).

2. Zerfall der Polytänchromosomen

Wie BAUER (1938a) bereits feststellte, setzt die beginnende Auflockerung an den Enden der Chromosomen ein, wodurch diese vorüber-

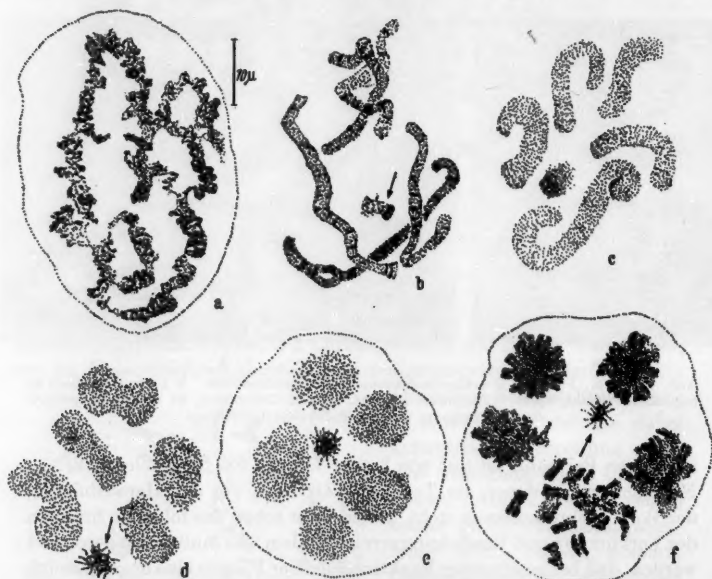


Abb. 5a—f. Herausbildung und Auflösung der primären Polytänchromosomen. a Spiralstadium, b Polytänchromosomen (16n), c und d Keulenstadium, e frühe Prophase des 16/32n-Endomitosezyklus, f Metaphase. Das X-Chromosom ist durch → markiert.

K.E.-Frischpräparat, Phako

gehend Hantel- bzw. Keulenform annehmen. Dabei verlieren sie jede innere Strukturierung. Der Unterschied zu einem sehr frühen Prophasestadium, wie es beim nächsten Endomitoseschritt als typisches „Zerstäubungsstadium“ im Sinne von HEITZ (vgl. GEITLER 1953) ausgebildet wird, besteht darin, daß die Chromosomen der Autosomen zu 5 dichten Komplexen gehäuft sind (Abb. 5c—e). Der Zusammenhalt bleibt in gelockerter Form auch im nächsten Stadium, das als späte Prophase anzusehen ist, gewahrt. Die einzelnen, freiwerdenden Chromosomen

sind hierbei oft stark gewunden und nicht durchgehend gleichmäßig kontrahiert (Abb. 6b). Dadurch sind Zählungen erschwert und es kann besonders in Schnittpräparaten der Eindruck entstehen, daß das Polytänchromosom in eine hohe Zahl (etwa 50) von Elementen zerfällt. Die stärker kontrahierten endometaphasischen Chromatidenpaare, die an und für sich besser zu erfassen wären, sind in der Regel schon gleichmäßig im Kernraum verteilt und wegen ihrer Vielzahl nicht mehr aus-zuzählen. Nur wenn ein Chromosom im Zerfall den anderen voraneilt,

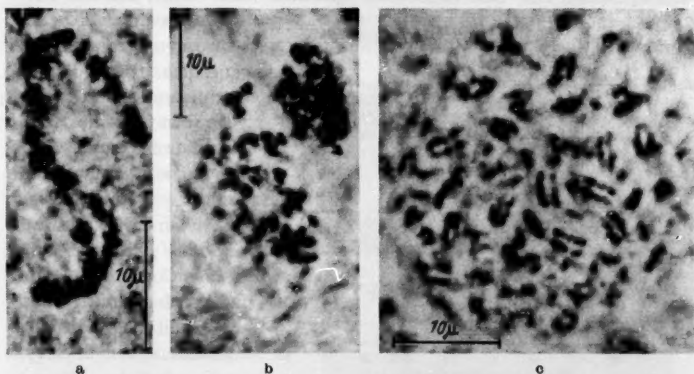


Abb. 6a—c. Zerfallstadien der primären Polytänchromosomen. a Polytänes Autosom mit Paarungslücke, b späte Prophase (16/32n), ein Autosom aufgelöst, ein weiteres noch kompakt, c Anaphase (16/32n). K.E.-Frischpräparat. Phako

kann die Anzahl seiner Abkömmlinge annähernd festgestellt werden. Das in Abb. 5f wiedergegebene, sich auflösende Polytänchromosom enthält 12 deutliche Chromatidenpaare, im Zentrum des Bereichs liegen einige Chromosomen übereinander. In einem anderen Falle wurde die Zahl 17 ermittelt. Der Wert 16 ist also sehr wahrscheinlich.

Der heterochromatische Abschnitt des Geschlechtschromosoms bildet sich während der Auflösung der Autosomen zu einem Endochromozentrum um. Weniger oft zerfällt dieses in 2 oder mehrere Untereinheiten. Eine weitere Aufteilung kann auf fortgeschrittenen Wachstumsstadien folgen (vgl. Abb. 22, S. 514).

Nach diesen Befunden ist der Zerfall der primären Polytänchromosomen mit einer vom 16- zum 32ploiden Satz führenden Endomitose gekoppelt, wobei die Kräfte, die in der Anaphase die Homologen distanzieren, offensichtlich zu ihrer gleichmäßigen Verteilung im Kernraum beitragen. Abb. 6c zeigt eine späte Endoanaphase nach Auflösung der Polytänen.

Kerne mit Polytänchromosomen sind eng auf eine Größenklasse begrenzt ($\bar{x} = 13,67 \pm 0,14 \mu$; $s = 1,4$). Unter Zugrundelegung der 16-Ploidie für dieses Kernvolumen ergibt sich ein mittlerer Wachstumsfaktor von 2,53 für die ersten 4 Endomitoseschritte. Der Endomitosezyklus bei $9-10 \mu$ würde dann von der tetra- zur oktoploiden Kernphase führen, während die Entstehung der Polytänchromosomen mit der 8/16-Endomitose verbunden wäre. Mit der Vorbereitung zum nächsten Endomitoseschritt setzt bereits der Abbau der Polytänchromosomen ein. Alle Ergebnisse sprechen somit dafür, daß das Vor-

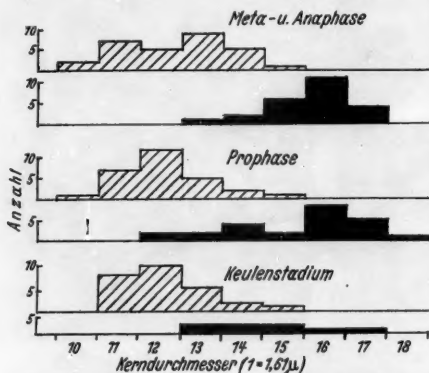


Abb. 7. Anteile von Keulenstadium, Prophase und Meta- und Anaphase des Zerfallszyklus nach Totalpräparaten zweier Ovarien. Schraffiert: Nebennährzellkerne, schwarz: die am Ei liegenden Hauptnährzellkerne

kommen der Polytänchromosomen lediglich auf das 16-ploide Interphasestadium beschränkt und ihre Herausbildung und Auflösung mit den angrenzenden Endomitoseschritten fest verknüpft ist. Die primären Polytänchromosomen sind aber relativ oft zu finden, weil das Nährfach, besonders der 2. Oocytingeneration längere Zeit auf diesem Stadium verharret, ehe es in die rasche Weiterentwicklung eintritt.

Im Zustande der Polytänie beginnen die NZK den Eikern an Volumen zu übertreffen. Aber auch zwischen den NZK eines Fachs entstehen Größenunterschiede. Die 4 unmittelbar am Ei liegenden, stärker heranwachsenden Nuclei werden mit VERHEIN (1921) als Hauptnährzellkerne den übrigen 11 Nebennährzellkernen gegenübergestellt. Die Auflösung der Polytänchromosomen bietet eine Gelegenheit, an Kernen mit einem scharf umgrenzten Zustand der Chromosomenvermehrung (frühe, späte Pro- und Metaphase des 16/32-Endomitosezyklus) Beziehungen zwischen Volumen und Kernphase zu untersuchen. Das Diagramm der Abb. 7 enthält die Meßergebnisse von 2 Ovarien mit in Auflösung befindlichen Polytänchromosomen. Es ergibt sich, daß 1. die Hauptnährzellkerne im Mittel bedeutend größer sind als die Nebenzellkerne gleichen Zerfallstadiums und 2. der durchschnittliche Anteil der Hauptnährzellkerne an fortgeschrittenen Endomitosestadien höher ist als bei den Nebennährzellkernen. Damit bestätigt sich an *Calliphora* eines der Ergebnisse von

LIPP (1953), daß endomitotisch wachsende Kerne rein funktionell weit in den Bereich der nächsten Kernklasse hinein an Volumen zunehmen können, und daß solche Kerne eine verstärkte Tendenz haben, in die nächste Polyploidiestufe einzutreten. Für unseren speziellen Fall bedeutet es, daß mit der Ausprägung unterschiedlicher NZK-Größen in einem Nährfach sichere Rückschlüsse aus dem Volumen auf die Kernphase nicht mehr möglich sind.

3. Wachstum der retikulären Nährzellkerne

Dem mit der Auflösung der Polytänochrosomen verbundenen Endomitosezyklus folgt sofort ein zweiter. Eine ausgeprägte Interphase scheint nicht zu existieren. Die NZK besitzen entweder das ganz fein verteilte Chromatin der sehr frühen Prophase oder kontrahierte Chromosomen. Übergangsstadien sind selten. Das X-Endochromozentrum ist in beiden Fällen zu erkennen. Im Zerstäubungsstadium hebt es sich als massiver Heterochromatinkörper aus dem homogenen, nur eine schwache Feulgenreaktion gebenden Kernraum heraus. Im Metaphasekern sind die euchromatischen Abschnitte an das Chromozentrum angezogen, wodurch sich der feulgenpositive Komplex zipflig vergrößert.

Nach diesen Endomitoseschritten machen die Chromosomen keinen ausgeprägten Formwechsel mehr durch. Die NZK zwischen 25 und 40–50 μ \varnothing sind von einem dichten, aus mehr oder weniger feulgenpositiven Chromosomen gebildeten „Kerngerüst“¹ erfüllt. Das in Ein- oder Mehrzahl vorliegende X-Chromozentrum ist in diesen Kernen schwer zu erkennen. In 3 von 31 untersuchten Ovarien mit NZK dieser Größenordnung war das Kerngerüst in zahlreichen Nuclei ganz von der Kernmembran zurückgezogen und besonders feulgenpositiv (Abb. 8). In 12 weiteren Eierstöcken war diese Erscheinung weniger stark

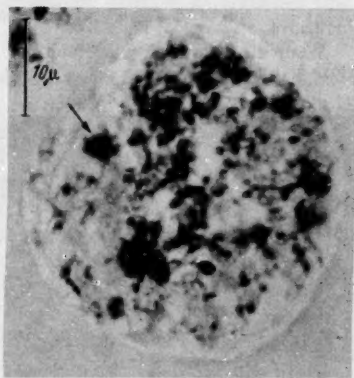


Abb. 8. Kontraktionsstadium, vermutlich Endometaphase. Das X-Chromozentrum ist durch einen Pfeil markiert. Es liegt während der Endometaphase in einem fibrillenfreien Hof. Helly, Feulgen, Phako

¹ Als Kerngerüst wird das aus den mehr oder weniger spiralierten und heterochromatisch miteinander verklebten Chromosomen gebildete Netzwerk bezeichnet, das im retikulären Kern vorhanden ist.

ausgeprägt. Eine Ablösung der Chromosomen von der Kernmembran wäre zu erwarten, wenn an einem aus \pm spiralisierten Chromonemen gebildeten, an vielen Punkten heterochromatisch verklebten Kerngerüst im Zusammenhang mit Endomitosevorgängen Kontraktionswellen ablaufen.

Der Einwand, in den von der Kernmembran abgehobenen Chromosomen lediglich ein Kunstprodukt zu sehen, liegt nahe. Da dieser Vorgang aber auf Kerne einer bestimmten Größenklasse beschränkt ist, muß es sich zumindest um ein signifikantes Artefakt handeln, das Rückschlüsse auf einen bestimmten Zustand des Kerninhaltes erlaubt.

4. Die letzte Wachstumsphase der Nährzellkerne (Bildung oligotäner Fibrillen)

Wenn die Oocyte das Nährfach an Volumen überflügelt — die Haupt-NZK haben dann bereits einen Durchmesser von $50\text{--}70\mu$ erreicht —,

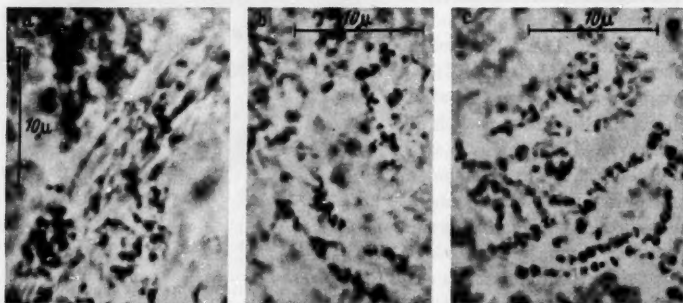


Abb. 9 a—c. Herausbildung der oligotänen Fibrillen. a NZK- σ von 40μ , stark gequetscht, noch keine Querbänderung sichtbar. b Herausbildung der oligotänen Fibrillen (ein zweites Spiralstadium?) $50\mu\sigma$. c oligotäne Fibrillen $70\mu\sigma$. Der Kerndurchmesser bezieht sich auf entsprechende Schnittpräparate. K.E.-Frischpräparat. Phako

beginnt sich besonders in diesen Kernen die Struktur zu verändern. Die Konturen des Kerngerüsts werden ausgeglichener. Der Kernraum ist nicht mehr von punkt- oder zickzackförmigen heterochromatischen Partien und feinsten, an der Grenze der Sichtbarkeit liegenden achromatischen Fäden erfüllt, sondern wird von mehr oder weniger gebogenen, im Schnittpräparat fast homogen erscheinenden Fibrillen durchzogen, die oft eine bestimmte Ausrichtung aufweisen (vgl. Abb. 22). In K.E.-Präparaten alter NZK läßt es sich eindeutig erkennen: Diese Fibrillen besitzen ein gut ausgebildetes Querscheibenmuster und sind sicherlich polytän (Abb. 9). Im Vergleich mit den „Raupenchromosomen“ möchte man annehmen, daß sie in der Regel 4—8wertig sind. Ein unmittel-

barer Beweis für die polytäne Natur und den Grad der Vielwertigkeit fehlt allerdings.

BAUER (1938b) und PAINTER (1939) sehen in der sichtbaren Fibrillierung der Speicheldrüsenchromosomen eine Aufsplitterung des Chromosomenkörpers in oligotäne Teilbündel, die besonders gut am Beginn der Aufzweigung im Balbiani-Ring zu erkennen ist (BAUER und BEERMANN 1952). Die quergebänderten Längselemente des herangewachsenen NZK sind vermutlich im Sinne der vergleichenden Morphologie homolog mit den Fibrillen der Speicheldrüsenchromosomen, denn sie können sich, wie die weiteren Untersuchungen zeigen werden, ebenfalls zu hochpolyptoiden Riesenchromosomen zusammenschließen, in denen sie, je nach der Paarungsintensität, mehr oder weniger deutlich zu erkennen sind. Sie werden im weiteren Verlauf der Arbeit als „oligotäne Fibrillen“ bezeichnet.

Die NZK mit oligotänen Fibrillen folgen den im vorhergehenden Kapitel beschriebenen Kontraktionsstadien. Die Fibrillen bilden sich durch einen Umformungsprozeß aus dem stark feulgenpositiven Gewirr von Chromosomen heraus. Möglicherweise wiederholen sich in abgewandelter Form im hochpolyptoiden NZK die Vorgänge, die im jungen NZK von der kryptopolyptänen zur polytänen Kernstruktur führten. Wegen der Vielzahl von Längselementen sind die einzelnen Stadien schwer zu analysieren und es bleibt offen, ob ein Spiralstadium dem Auftreten der oligotänen Fibrillen vorangeht.

IV. Riesenchromosomen in alten Nährzellkernen

Der Ausdruck „Riesenchromosom“ bleibt im Rahmen dieser Arbeit hochpolyptoiden Chromosomen vorbehalten, die sich aus einer größeren Anzahl von oligotänen Fibrillen zusammensetzen. Die soeben dargestellte Struktur der alten NZK, bei denen das Retikulum aus oligotänen Fibrillen besteht, kann starken Abwandlungen unterworfen sein. Eine parallele Ausrichtung und gelegentliche Paarung der Fibrillen führt zu höherwertigen Elementen. Von 50μ \varnothing an können sie vor allem in den Haupt-NZK in zunehmend gebündelter Form erscheinen (Abb. 10 und 11). Im Extremfall exakter Paarung bilden sich Riesenchromosomen, die weder an Dicke und Länge noch an Klarheit des Querscheibenmusters den bekannten Speicheldrüsenchromosomen der Dipterenlarven nachstehen (Abb. 12). In der Regel besteht jedoch ein auffälliger Unterschied gegenüber den Speicheldrüsenkernen. Es liegen nicht alle Chromosomen, meist auch nicht die Abkömmlinge eines Chromosoms durchgehend in konjugierter Form vor. Weiterhin ist das Querscheibenmuster der Riesenchromosomen vielfach unscharf, teilweise liegen die Riesenchromosomen in Form eines aus verschiedenen starken Teilbündeln unregelmäßig und locker geflochtenen Stranges vor (Abb. 13).

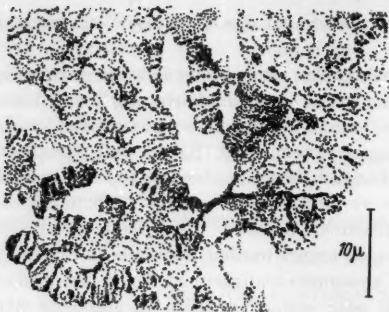


Abb. 10

Abb. 10. Angelaufene Paarungstendenz, Übergang von retikulärer zu polytärer Struktur. K.E.-Frischpräparat. Phako

Abb. 11. Teilweise konjugierte, teilweise heterochromatisch verklebte Chromosomenaggregation. An beiden Enden befinden sich strukturierte Nucleolen. K.E.-Frischpräparat



Abb. 11

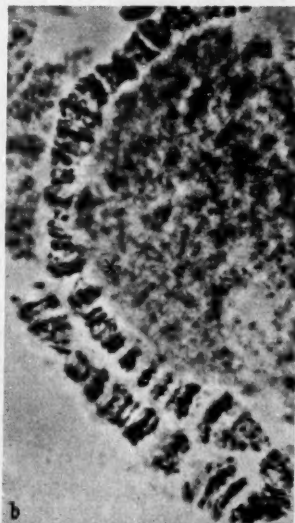
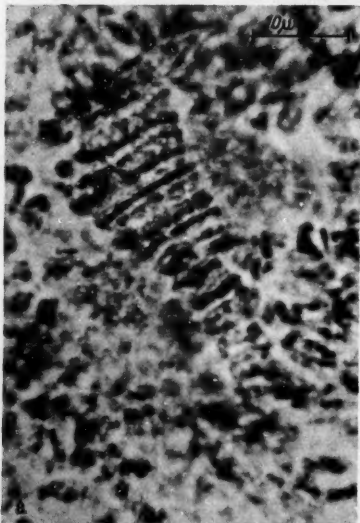


Abb. 12 a u. b. Riesenchromosomen aus NZK von 70—80 μ \varnothing . a Das Riesenchromosom ist von einem freien Hof umgeben und geht an beiden Enden in das Kerngerüst über. Querscheibenbau sehr exakt. b Zwei, vermutlich bei * terminal verbundene Riesenchromosomen. Unregelmäßiger Querscheibenbau vor allem im oberen Chromosom. K.E.-Frischpräparat. Phako

Um zu einem Verständnis des Vorkommens dieser Riesenchromosomen in alten NZK zu gelangen, sollen zunächst folgende Fragen diskutiert werden: Handelt es sich wirklich um Bündel konjugierter homologer Chromosomen und inwieweit sind sie mit bestimmten Chromosomen zu identifizieren? Sind diese Riesenchromosomen „überlebende“ Polytänchromosomen junger NZK oder sind sie durch Konjugation in alten NZK neu entstanden? Welche Umstände führen

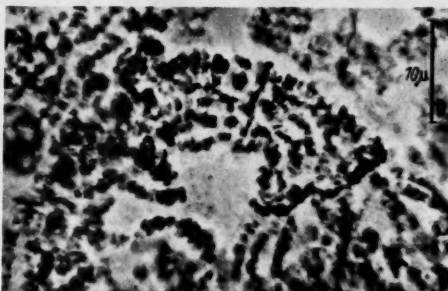


Abb. 13. Locker gebündeltes Riesenchromosom mit sehr starken „oligotänen“ Fibrillen. K.E.-Frischpräparat. Phako

gelegentlich zur Erhaltung und weiterem Wachstum der primären Polytänchromosomen bzw. zur Neubildung von Riesenchromosomen aus geringerwertigen Untereinheiten?

1. Identifizierung der Riesenchromosomen

Einer Erkennung bestimmter Riesenchromosomen in herangewachsenen NZK stehen verschiedene Schwierigkeiten entgegen. Nur in den seltensten Fällen liegt der Gesamtbestand an Chromonemen in Form von Riesenchromosomen vor. Aber selbst in solchen Kernen sind die Riesenchromosomen nicht gleichwertig. Offensichtlich können die Abkömmlinge eines Chromosoms zu einem oder auch mehreren Bündeln, die dann entsprechend dünner sind, zusammengefaßt sein. Schließlich ergeben sich des öfteren terminale Bindungen, die durch die bevorzugte Lage der Chromosomen entlang der Kernmembran begünstigt werden. Eine Beziehung zum haploiden oder diploiden Satz ist selten. In Abb. 14 ist einer der wenigen Kerne dargestellt, in dem 5 Chromosomenkomplexe entsprechend der haploiden Anzahl der Autosomen enthalten sind. Unter den 4 in einer Ebene befindlichen Chromosomenbündeln zieht sich ein 5. in annähernd rechtem Winkel hin, das noch weniger gepaart ist. Riesenchromosomen, die sich verzweigen, sind relativ oft vorhanden. Die beiden Schenkel zeigen dann nicht nur ein konstantes Querscheiben-

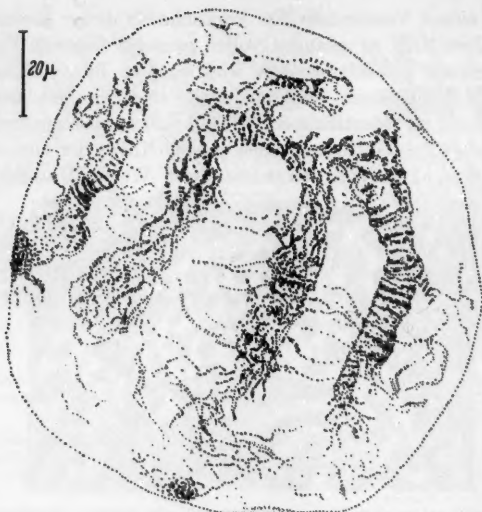


Abb. 14. NZK mit haploider Anzahl von Chromosomenbündeln.
K.E.-Frischpräparat. Phako

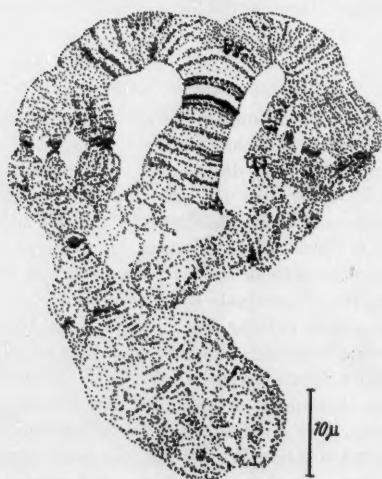


Abb. 15. Gegabeltes Riesenchromosom mit heterochromatischen Brücken im locker gebündelten Abschnitt. K.E.-Frischpräparat. Phako

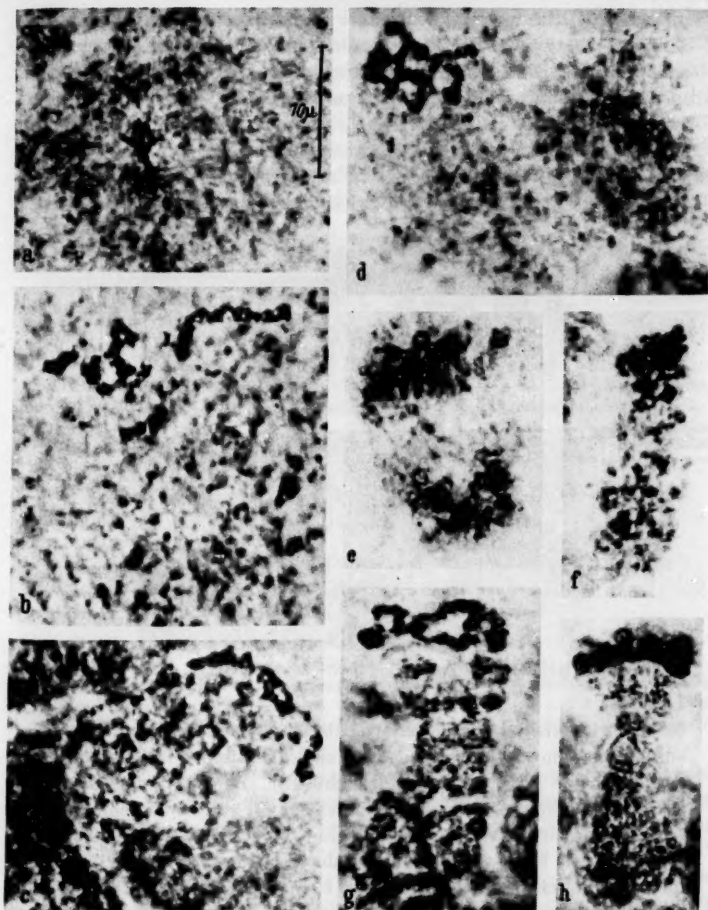


Abb. 16 a—h. Konjugationsstadien des X-Chromosoms. a Chromozentrum im retikulären NZK von $40\ \mu$, b desgleichen von $50\ \mu$, Herausbildung der oligotänen Fibrillen, c und d $60\text{--}70\ \mu$, nur lockere Bündelung, e freigequetschtes, lockeres Teilbündel aus einem solchen Kern, f, g, h X-Chromosomen aus NZK von $50\text{--}80\ \mu$ K.E., a, b, d, h Frischpräparat, c, e, f, g Euparal

muster, sondern auch eine gleiche Paarungsintensität ihrer Fibrillen (Abb. 15). Chromosomen, die sich in derselben Weise zwiebförmig aufbuchten und dann durch „heterochromatische Brücken“ sehr eng

zusammengehalten werden, wurden wiederholt beobachtet. Ob es sich dabei um eine spezifische Eigentümlichkeit eines bestimmten Chromosoms oder der NZK-Riesenchromosomen im allgemeinen handelt, ist an dem vorhandenen Material nicht zu entscheiden. Vielleicht bestehen die Spangen aus proximalem Heterochromatin und das Kinetochor ist in irgendeiner Weise an dem Zusammenhalt beteiligt.

Es gelingt nur, das X-Chromosom in verschiedenen Kernen zu identifizieren. Es besteht in gepaartem Zustand aus 2 auffälligen, endständigen

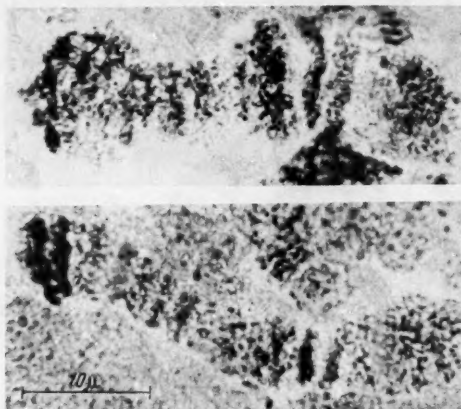


Abb. 17. Zwei maximal gepaarte und gestreckte X-Chromosomen. K.E., oben Euparal, unten Frischpräparat

heterochromatischen Querscheiben, die im retikulären Kern das Endochromozentrum ausmachen und einem euchromatischen Teil, der meistens das 2—4fache seiner Dicke mißt (Abb. 16). Der euchromatische Abschnitt des Chromosoms zeigt entsprechend der stark wechselnden Kontraktion ein unterschiedlich deutliches Querscheibenmuster (Abb. 17). Das terminale Heterochromatin ist jedoch so charakteristisch, daß nicht daran gezweifelt werden kann, daß es sich bei den abgebildeten Chromosomen um homologe Gebilde handelt.

2. Sind die Riesenchromosomen herangewachsene primäre Polytänychromosomen oder durch Konjugation neu entstanden?

Da im Verlaufe des frühen Kernwachstums sich Polytänychromosomen herausbilden und wieder zerfallen, liegt die Annahme nahe, daß ihre Auflösung unter bestimmten Umständen ausbleiben kann. Die Riesenchromosomen wären dann nichts anderes als solche herangewachsenen Polytänychromosomen. Ihre vom Chromosomensatz oft abweichende

Anzahl, die Gabelungen und feineren Verzweigungen wären als Erscheinungen steckengebliebener Auflösungsstadien aufzufassen, die dann in polytärer Form weiterwüchsen. BAUER und BEERMANN (1952) nehmen an, daß der polyploide Satz von Polytänychromosomen in der Riesenspeicheldrüsenzelle der Cecidomyide *Lestodiplosis*, den WHITE (1946) beschrieb, auf diese Weise entsteht. Wenn diese Auffassung auch für die NZK zuträfe, dann müßten die Riesenchromosomen durch eine frühzeitig einsetzende und anhaltende Chromosomenvermehrung in polytärer Form entstehen.

Riesenchromosomen fanden sich in 7 von 69 *Calliphora*-Ovarien vergleichbaren Entwicklungszustandes, deren durchschnittliche Durchmesser für Haupt- und Neben-NZK getrennt in Tabelle I verzeichnet sind. Ebenfalls in die Tabelle aufgenommen wurden 4 weitere Ovarien, in denen zwar keine Riesenchromosomen mit ausgeprägtem Querscheibenmuster, aber intensiv feulgenpositive Chromosomenbündel entsprechender Stärke enthalten waren.

Tabelle I. Nährzellkerndurchmesser in Mikra

Mittlerer Wert von mindestens 20 Messungen je Ovar. R = Kerne mit Riesenchromosomen, B = Kerne mit Chromosomenbündeln.

| Haupt-NZK | Neben-NZK | Haupt-NZK | Neben-NZK |
|-----------|-----------|-----------|-----------|
| B 50 | 35 | R 68 | 45 |
| R 51 | 38 | B 69 | 46 |
| R 57 | 46 | R 71 | 38 |
| B 58 | 44 | B 77 | 42 |
| R 65 | 44 | R 82 | 57 |
| R 68 | 41 | | |

Zu diesen an Schnitt- und Quetschpräparaten untersuchten Ovarien kommen noch 26 weitere der gleichen Größenklasse, die nur nach der K.E.-Methode bearbeitet wurden. Die Einstufung erfolgte vor der mikroskopischen Untersuchung anhand des Volumenverhältnisses von Ei- zu Nährfach, das für die einzelnen Wachstumsstadien charakteristisch ist und einen Rückschluß auf die Kerngröße erlaubt.

In 3 von diesen 26 Ovarien wurden NZK mit Riesenchromosomen gefunden. Damit stehen sich unter 95 Ovarien mit herangewachsenen NZK 81 mit retikulärem Kerntyp und 14 mit Riesenchromosomen gegenüber.

Wenn die Auffassung richtig wäre, daß die Riesenchromosomen durch einen verzögerten Abbau und weiteres Heranwachsen der primären Polytänychromosomen entstünden, müßten sie von dem Stadium an, in dem die „Raupenchromosomen“ sich in der Regel auflösen ($15-20\mu\varnothing$), zu finden sein. Dies ist jedoch nicht der Fall. Zwischen der Phase der primären Polytänychromosomen und dem ersten Auftreten von Riesenchromosomen liegt ein Wachstumsintervall, das von 20 zu 50μ NZK-Durchmesser führt, was einer 15fachen Volumenvermehrung gleichkommt. 73 Ovarien mit dieser mittleren Kerngröße wurden untersucht und hatten nur retikuläre Kerne, obwohl man bei der oben

entwickelten Anschauung erwarten sollte, gerade in den jüngeren Ovarien in einem höheren Prozentsatz Riesenchromosomen zu finden.

Selbst wenn wir für eine statistische Prüfung der Frage, ob das Ausbleiben der Riesenchromosomen in den mittelgroßen NZK auf Zufall beruhen kann, die für die Hypothese der überlebenden Polytänochrosomen günstige, aber unwahrscheinliche Annahmen machen, daß der Zerfall erst in alternden NZK in einer 2. kritischen Phase einsetzt und deshalb kein höherer Prozentsatz von Riesenchromosomen zu erwarten wäre; wenn wir weiterhin für den statistischen Ansatz nur Ovarien mit Riesenchromosomen und eindeutigen Chromosomenbündeln berücksichtigen, NZK mit Andeutung einer Bündelung aber als retikulär rechnen (weil ihre Einstufung

bei dem kontinuierlichen Übergang zum retikulären Typ in vielen Fällen eine Ermessenssache wäre), kommen wir mit hinreichender Sicherheit zu dem Ergebnis:

Ein zufälliges Ausbleiben von Ovarien mit Riesenchromosomen unter den 73 mittelgroßen Ovarien ist unwahrscheinlich ($P < 0,001$).

Die Hypothese der überlebenden Polytänochrosomen muß deshalb verworfen werden, und es bleibt nur die Alternative, daß die



Abb. 18. Konjugation der oligotänen Fibrillen im „retikulären“ Kern. Bouin-Allen-Bauer, Feulgen

Riesenchromosomen durch Paarung in den NZK über 50μ entstehen. Die morphologischen Befunde passen weit besser zu dieser Vorstellung, denn es führt eine Übergangsreihe von den zahlreichen retikulären Kernen, in denen sich Konjugationsvorgänge andeuten, bis zu den relativ seltenen Kernen, in denen die Paarung sämtlicher Homologen zu Riesenchromosomen durchgeführt ist. Viele Zwischenstadien erwecken den Eindruck, daß die Konjugation wegen der heterochromatischen Verklebung nicht-homologer Stellen steckengeblieben ist, andere, daß die Chromosomenbündel sich in Auflösung befinden. Im Einzelfall kann nicht gesagt werden, in welcher Richtung die Entwicklung abläuft. Da der Anteil von Ovarien mit Riesenchromosomen vom ersten Auftreten bei 50μ an bis zur Degeneration der NZK bei etwa 90μ nicht zunimmt, ist es wahrscheinlich, daß die Riesenchromosomen nach einer bestimmten Zeit wieder zerfallen. Für eine Klärung dieses Problems auf statistischem Wege reicht das Vorkommen der Riesenchromosomen nicht aus.

Eine einmal begonnene Konjugation scheint sich über eine bestimmte Region hin ziemlich rasch durchzusetzen. So gibt es Ovarien, in denen

die retikulären NZK vereinzelt gut ausgebildete Riesenchromosomen enthalten, die in einem freien Raum liegen, den die Längselemente im ungebündelten Zustand eingenommen haben müssen (Abb. 12a, 18 und 19). Durch heterochromatische Brücken zusammengehaltene Fibrillen kommen dagegen meist in Ovarien mit weitgehend gebündeltem Kerninhalt vor. Es wäre denkbar, daß hier die Riesenchromosomen bildende Paarungskraft nachgelassen hat und eine vollkommene Auflösung nur durch die heterochromatische Verbindung verhindert wird.

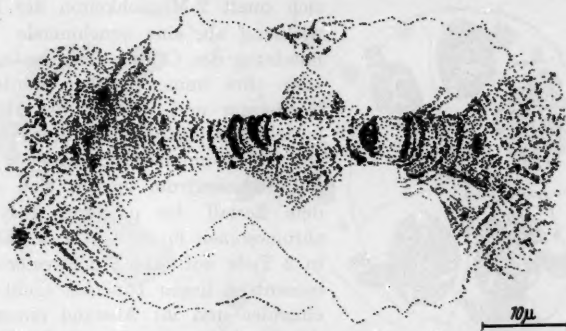


Abb. 19. Konjugation in einem Kern von etwa 50μ , die synchron mit der Herausbildung der oligotänen Fibrillen abläuft. Das Querschneibenmuster ist bis ins Retikulum hinein zu verfolgen. In der Mitte eine dem Balbiani-Ring ähnelnde Struktur.
K.E.-Frischpräparat. Phako

Dies trifft sicherlich auch für das X-Chromozentrum zu, denn sein euchromatischer Teil zeigt gegenüber den Autosomen keine verstärkte Paarungstendenz.

3. Die Lage der Homologen im retikulären Nährzellkern als Vorbedingung der Konjugationsvorgänge

Das erfolgreiche Ablaufen von Chromosomenpaarungen hat neben der vielleicht im Zusammenhang mit dem rhythmischen Kernwachstum wiederholt verstärkt auftretenden, gegenseitigen Anziehungskraft der Homologen eine weitere Voraussetzung. Die Abkömmlinge eines Chromosoms müssen während des Kernwachstums beieinander liegenbleiben, damit die Nichthomologen sich gegenseitig nicht behindern und die nur als räumlich begrenzt wirksam vorzustellenden Anziehungskräfte Ansatzpunkte finden.

Die durch den Zerfall der primären Polytänchromosomen frei werdenen Abkömmlinge verteilen sich in der Regel gleichmäßig im Kernraum. Dadurch wird, abgesehen von dem X-Chromozentrum das Erkennen

von bestimmten Chromosomen unmöglich. Der NZK dieser mittleren Wachstumsstufe ist von einem kompakten Kerngerüst erfüllt. Nur in 2 unter 13 Ovarien, in denen die Polytänochrosomen soeben zerfallen waren (NZK-Durchmesser $12-18\mu$), waren abgegrenzte Chromosomenbezirke vorhanden, die wahrscheinlich Anhäufungen der Derivate bestimmter Autosomen darstellen (Abb. 20). Unmittelbar nach dem Zerfall sind solche Inhomogenitäten am seltensten, mit steigender Kerngröße nimmt das Erscheinen abgegrenzter Chromosomenhaufen zu. Es zeichnen

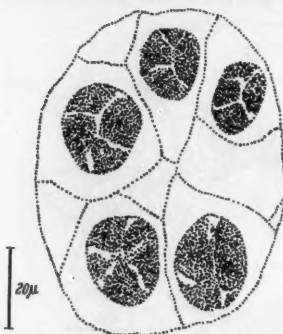


Abb. 20. Nährfach nach Zerfall der primären Polytänochrosomen mit aufgelgliederten Chromosomenbezirken. Helly, Feulgen

sich somit 2 Möglichkeiten der Entwicklung ab, eine zunehmende Vermischung des Chromosomenbestandes oder eine immer stärker werdende Sonderung und Ballung der Homologen. Dies läßt sich am Geschlechtschromosom unmittelbar verfolgen. Das X-Chromozentrum spaltet sich nach dem Zerfall der primären Polytänochrosomen in etwa 40% der Kerne in 2 Teile auf. Die 2 Schwesterchromozentren liegen zunächst dicht beieinander und ihr Abstand nimmt in der Regel nur wenig zu. Auf späteren Stadien können sie ausnahmsweise sehr entfernt voneinander im Kernraum vorkommen. Bei einem über die

Zweiteilung hinausgehenden Zerfall liegt die Hauptmasse der durch das terminale Heterochromatin gekennzeichneten oligotänen Fibrillen meist in einem Kernbezirk, einzelne finden sich jedoch verstreut zwischen den Autosomen. Die Entscheidung über das Ausmaß der späteren Vermischung der Abkömmlinge der Polytänochrosomen scheint bereits während der Auflösung derselben zu fallen.

Seit HETZ (1931) sind die Nucleolen wiederholt zur Lagebestimmung von Chromosomen im Ruhekern herangezogen worden. Bei *Calliphora* entstehen auffällige Nucleolen erst in NZK über 50μ Ø. Sie liegen im retikulären Kern in geradezu geometrisch regelmäßiger Anordnung in geringem Abstand von der Kernmembran. In Kernen mit Riesenchromosomen ist ihre Anzahl verringert und ihr Volumen vergrößert, wie es bei einer Konjugation von nucleolenbildenden Chromosomen zu erwarten ist (Abb. 21). Es ist jedoch fraglich, ob aus dem verteilten Vorkommen der Nucleolen im retikulären Kern auf eine entsprechend weitgehende Verteilung bestimmter Chromosomen geschlossen werden darf, zumal bei *Calliphora* über das Vorhandensein von Nucleolenchromosomen nichts bekannt ist.

Immerhin zeigt das Verhalten der X-Chromozentren und seiner Derivate mit hinreichender Sicherheit, daß in herangewachsenen NZK die Homologen sich bei Lösung der heterochromatischen Bindung voneinander entfernen und gelegentlich weit im Kernraum verstreut werden können. Für die nicht heterochromatisch verbundenen Autosomen muß eine in der Regel viel weiter gehende Verteilung im Kern angenommen werden. Neben einer zeitweilig verstärkten Paarungstendenz dürfte das Ausmaß der räumlichen Konzentrierung der Homologen eine ent-

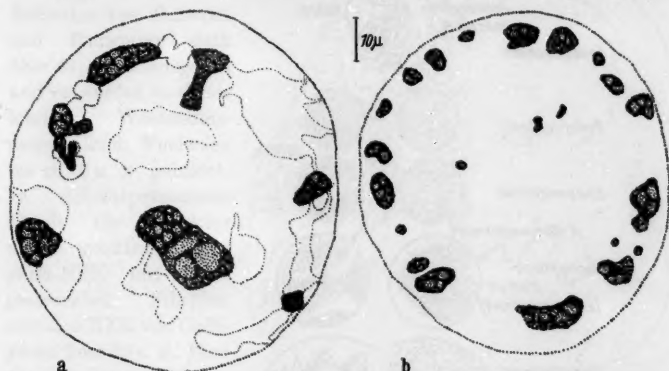


Abb. 21 a u. b. Nucleolenanordnung in herangewachsenen NZK. a Kern mit Chromosomenbündeln (punktierter Umriss), b „retikulärer“ Kern, nur Nucleolen eingezeichnet. Helly, Gallocyenin

scheidende Rolle für das Zustandekommen von Riesenchromosomen spielen. Hinzukommt weiterhin, daß die in der letzten Phase des NZK-Wachstums einsetzende Chromosomenvermehrung in polytärer Form die Möglichkeit von Komplikationen beim Paarungsprozeß erheblich herabsetzt. In Abb. 22 sind der normale und der zu den Riesenchromosomen führende Entwicklungsgang nebeneinander dargestellt.

V. Ein Vergleich mit *Drosophila melanogaster*

Das Wachstum der NZK von *Calliphora* vollzieht sich nach den hier dargestellten Untersuchungen in einer Folge verschiedener Endomitosetypen. Handelt es sich dabei um einen vereinzelt dastehenden Fall? Die frühen Endomitosezyklen verlaufen zweifellos bei anderen Angehörigen der Familie der *Muscidae* im gleichen Sinne (VERHEIN 1921, BAUER 1938a), von den Übergängen zu polytänem Wachstum in alten NZK ist bisher nichts bekannt geworden. Die Darstellung, die PAINTER und REINDORF (1939) für den letzten von ihnen gefundenen Endomitoseschritt bei *Drosophila melanogaster* geben, legt jedoch die Vermutung

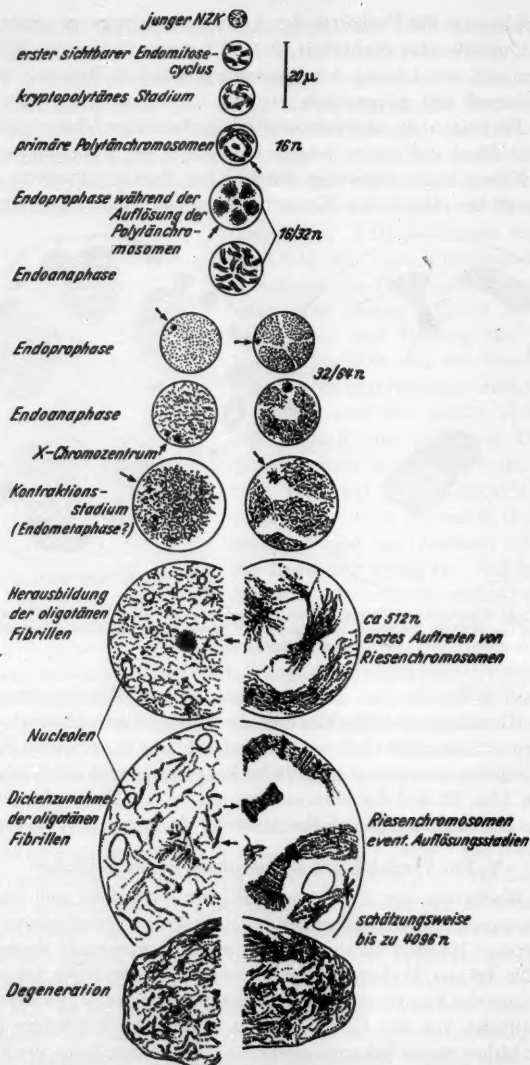


Abb. 22. Wachstum der *Calliphora*-NZK. Halbschematisch. Die Stadien stellen nicht in allen Einzelheiten eine durchgehende Entwicklungsreihe dar. Das X-Chromosom bzw. Chromozentrum ist durch → markiert. Linke Reihe: Normales Wachstum. Rechte Reihe: Bildung sekundärer Riesenchromosomen

nahe, daß eine solche polytäre Chromosomenvermehrung auch in anderen Cyclorrhaphen-Familien vorkommt. In der Fig. 18 von PAINTER und REINDORF sind einige Chromosomen dargestellt, die die Struktur oligotärer Fibrillen besitzen. Es wurden deshalb die NZK von *D. melanogaster* erneut an Paraffinschnitt- und K.E.-Quetschpräparaten untersucht.

Das Wachstum der *Drosophila*-NZK kann im Gegensatz zu den Befunden von PAINTER und REINDORF auch über 40μ \varnothing hinausgehen und es werden in dieser letzten Wachstumsperiode auch Nucleolen bis zu 5μ \varnothing gebildet. In Schnittpräparaten ähnelt die Struktur dieser größten *Drosophila*-NZK mit ihren gestreckten Fibrillen sehr den NZK von *Calliphora* über 50μ \varnothing . Eine Querbänderung der Fibrillen ist allerdings bei *Drosophila* im Schnittpräparat nur in den seltensten Fällen zu erkennen.

Die Verarbeitung des *Drosophila*-Ovars zu K.E.-Quetschpräparaten bereitet größere Schwierigkeiten als bei

Calliphora. In den wenigen Fällen, in denen es gelingt, NZK der letzten Wachstumsphase vom umgebenden Plasma freizuquetschen, ist mit Phasenkontrastoptik an vielen Stellen der Aufbau des „Kerngerüsts“ aus oligotären Fibrillen deutlich zu erkennen (Abb. 23). An Dicke stehen die oligotären Fibrillen von *Drosophila* denen entsprechender Stadien von *Calliphora* nicht nach. Es dürfte sich also bei dem letzten von PAINTER und REINDORF abgebildeten Endomitosezyklus um die Herausbildung der oligotären Fibrillen handeln. Es ist anzunehmen, aber nicht unmittelbar zu beweisen, daß mit diesem Vorgang eine Vermehrung des Chromosomenbestandes verbunden ist.

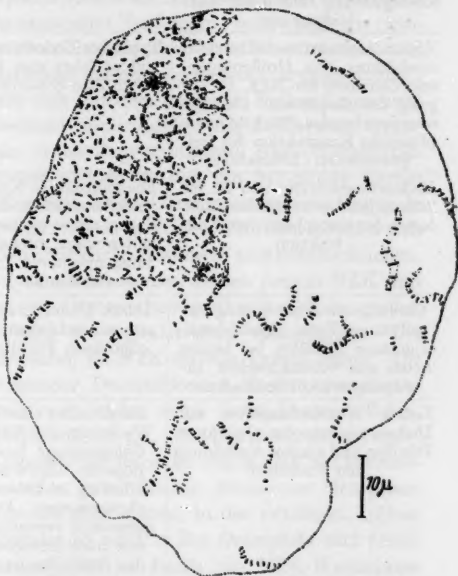


Abb. 23. NZK von *Drosophila melanogaster*. Durchmesser eines entsprechenden Stadiums als Schnittpräparat 45μ . Im oberen linken Quadranten sind alle mit Karmin angefarbten Granula eingezeichnet, es dürfte sich dabei durchgehend um Querbänder oligotärer Fibrillen handeln. Im übrigen Kernraum wurden nur die gut sichtbaren oligotären Fibrillen eingezeichnet. K.E.-Euparal, Phako

Tabelle 2. Folge des Formwechsels der Chromosomen und Endomitosetypen bei *Calliphora erythrocephala* und *Drosophila melanogaster*

| Stadium | <i>Calliphora</i> | <i>Drosophila</i> |
|--|---|--|
| Früheste Endomitoseschritte unter Beibehaltung der Chromosomenpaarung führen zur Ausbildung von | Polytänchromosomen im 16-ploiden Stadium | Eng gepaarten Chromosomenbündeln im 8n-Stadium |
| Endomitoseschritte während der Ausbildung von Größenunterschieden unter den NZK. Sprengung des „haploiden“ Chromosomenverbandes. Stärkste metaphasische Kontraktion der freigeordneten Chromatiden | Typischer Endomitosezyklus führt vom 16- zum 32 n-Stadium | 2 typische Endomitosezyklen bei 16n und 32n (P. u. R., Fig. 7—12*) |
| Endomitoseschritte von 32 bis 256n zeigen fortwährendes Nachlassen der metaphasischen Kontraktion | Feulgenpositive Kontraktionsstadien des Kerngerüsts wechseln mit weniger intensiv feulgenpositiven Zuständen ab | Unterschiede in der Intensität der Feulgenreaktion, geringer Formwechsel der Chromosomen |
| Chromosomenvermehrung in polytärer Form, Ausbildung oligotärer Fibrillen bei beiden Arten aus volumetrischen Erwägungen im 512n-Stadium | Durch Umformungsprozesse entstehen die oligotären Fibrillen | Vgl. Fig. 16—18 von P. u. R. |
| Letzte Wachstumsphase mit Dickenzunahme der oligotären Fibrillen und starker Ausbildung der Nucleolen | Anhaltendes starkes Wachstum der NZK. Gelegentliche Konjugation oligotärer Fibrillen zu Riesenchromosomen. Degeneration vermutlich erst nach Erreichen des 4096n-Stadiums | Rasch einsetzende Degeneration der NZK im 1024n-Stadium |

* Nach den Erfahrungen an *Calliphora* ist es wahrscheinlich, daß Fig. 9 von PAINTER und REINDORF eine Phase darstellt, die vor Fig. 7 und 8 kommt und mit dem Keulenstadium von *Calliphora* zu vergleichen ist.

PAINTER und REINDORF haben 5 Endomitosezyklen beobachtet, nehmen aber unter Zugrundelegung des Wachstumsfaktors 2,0 an, daß tatsächlich 8 stattfinden. Vor der Herausbildung der oligotären Fibrillen liegt auch bei *Drosophila* eine Wachstumsperiode in der keine Endomitosezyklen zu finden sind. PAINTER und REINDORF schreiben S. 281: „In the later stages the form of the chromosomes does not change very much but differences in the intensity of staining is very marked.“ Dieses schwer analysierbare Stadium entspricht offensichtlich der Wachstumsperiode von *Calliphora*, in der nur durch verstärkte Färbbarkeit und Abheben des Kerngerüsts von der Kernmembran Endomitoseschritte zu erschließen sind. Die weitgehende Übereinstimmung in der Folge verschiedener Endomitosetypen bei *Drosophila* und *Calliphora* ist in Tabelle 2

wiedergegeben. Die Unterschiede sind nur gradueller Natur. Die *Calliphora*-NZK zeichnen sich allerdings in allen Stadien durch einen auffälligeren Formwechsel aus.

VI. Erörterungen

In den NZK von *Calliphora* entstehen im Verlauf des Wachstums 4 Arten von polytänen Chromosomen. In jungen, wahrscheinlich oktaploiden NZK sind als Interphasechromosomen aus Chromozentren und feulgennegativen Zwischenstücken zusammengesetzte „kryptopolytäne“ Chromosomen vorhanden, die sich mit dem nächsten Endomitoseschritt zu echten „Polytänchromosomen“ umwandeln. Als 3. Element treten in NZK von etwa 50μ \varnothing an (unter Zugrundelegung eines Wachstumsfaktors = 2 als Näherungswert handelt es sich um 512-ploide Kerne) „oligotäne Fibrillen“ als Ergebnis einer Chromosomenvermehrung in polytärer Form in Erscheinung. Diese multiplen Fibrillen können sich schließlich zu hochpolyploiden „Riesenchromosomen“ zusammenschließen.

Die Entstehung von Polytänchromosomen in den jungen NZK und in verschiedenen Geweben von Dipterenlarven ähnelt sich in großen Zügen. In beiden Fällen wird ein Spiralstadium durchlaufen. Die Existenz der Polytänchromosomen im NZK ist von kurzer Dauer. Ihr folgen zunächst mit abnehmender Deutlichkeit 2 Endomitoseschritte und dann ein Kernwachstum mit nicht mehr feststellbarem Formwechsel. Nach GRITLER (1953) scheint „... der hauptsächlichste Unterschied verschiedener Endomitosetypen darin zu liegen, daß der chromosomale Formwechsel, der in einer gewöhnlichen Mitose zur Metaphase führt, verschieden früh — in der sehr späten, in der mittleren, frühen oder frühesten Prophase abgestoppt wird“. Bei *Drosophila* und *Calliphora* folgen diese Endomitosetypen im Laufe des NZK-Wachstums rasch aufeinander und führen schließlich zur Chromosomenvermehrung in polytärer Form. Die Ausbildung der oligotänen Fibrillen ist wegen der Vielzahl der Längselemente nicht zu verfolgen. Doch hat man den Eindruck, daß eine im submikroskopischen Bereich angelaufene Aggregation von Chromonemen, d. h. der elementaren Längseinheiten auf einem bestimmten kritischen Stadium durch einen Formwechsel ziemlich unvermittelt lichtoptisch sichtbar wird. In dieser Phase sind die Chromosomen oft spiralförmig gewunden. Möglicherweise geht dem Auftreten der oligotänen Fibrillen ebenso ein Spiralstadium voraus wie der Herausbildung der primären Polytänchromosomen. Über die Entwicklungsgeschichte des polyploiden Satzes von Riesenchromosomen in der „super-giant cell“ der Cecidomyide *Lestodiplosis*, die sich zum Vergleich anbietet, ist nichts bekannt. Die polytäne Vermehrung setzt bei *Calliphora* jedenfalls erst auf einem späteren Stadium des Kernwachstums ein. Wie weit die Polytänisierung in den größten NZK fortschreitet, läßt

sich schwer beurteilen. Aufspaltungen wie auch sekundäre Verdickung durch Paarungen benachbarter Fibrillen sind sicherlich keine seltenen Ereignisse.

BAUER und BEERMANN (1952) erörtern im Anschluß an METZ (1941) und PAINTER (1941) die Frage, ob die sichtbaren Fibrillen der Speicheldrüsenchromosomen Ausdruck einer geordneten Gliederung des polytänen Bündels sind und eine Gruppierung der submikroskopischen Längselemente zu Einheiten höherer Ordnung anzeigen. Wegen der unregelmäßigen Aufzweigung der oligotänen Teilbündel in den Balbiani-Ringen lehnen BAUER und BEERMANN zum mindesten für die höchsten Stufen eine feste Ordnung ab. In den sekundären Riesenchromosomen des NZK sind die oligotänen Fibrillen oft gut zu erkennen. Es wäre denkbar, daß sie wenigstens in den Fällen, in denen nur eine lockere Bündelung eintritt, als primär polytäne Struktureinheiten im Riesenchromosom erhalten bleiben.

Für die Neubildung von Riesenchromosomen aus den oligotänen Fibrillen fehlen unmittelbar vergleichbare Vorgänge. Eine Parallele zur Paarung der Homologen während der Meiose liegt nicht vor. Der Aufbau der Riesenchromosomen aus den oligotänen Fibrillen stellt einen Zusammenschluß polytärer Aggregate zu höherwertigen Chromosomen dar und ist deshalb nur mit Paarungsvorgängen zwischen polytänen Elementen zu vergleichen. Es sind viele Dipterenarten bekannt, deren Speicheldrüsenchromosomensatz Übergänge von der haploiden zur diploiden Anzahl zeigt. Bei *Bibio marci* und einer unbestimmten *Simulium*-Art wurde die Paarungstendenz statistisch untersucht (KUNZE 1953). Es stehen sich Regionen erhöhter und verringerter Paarungstendenz gegenüber. Die Verteilung der Paarungslücken ist keineswegs zufällig, aber von der Dichte der Querscheiben unabhängig. Es bleibt auch bei diesen speziellen Untersuchungen unbekannt, ob das Paarungsmuster im Laufe der Entwicklung oder mit dem physiologischen Zustand wechselt, ob Aufspaltungen oder Konjugationen vorkommen. E. GOLDSCHMIDT (1947) gibt für Rassenbastarde von *Chironomus* und WHITE (1954) für *Cecidomyia serotina* zunehmende Aufspaltung mit steigendem Alter an. Der Zerfall der primären Polytänchromosomen und darauffolgende Übergang zu retikulärer Kernstruktur im Fliegenovar und bei manchen Nematoceren (WHITE 1948, MAINX 1949) sind die Extremfälle nachlassender Paarungsaffinität.

Ein Zusammenschluß der Längselemente findet mit Sicherheit bei der Rückbildung der Balbiani-Ringe statt, die bei der Chironomide *Acricotopus lucidus* von MECHTELKE (1953) eingehend untersucht wurde. Man kann den Balbiani-Ring nach den Untersuchungen von BAUER und BEERMANN (1952) und BEERMANN (1952) als Zone auffassen, in der das Riesenchromosom funktionsbedingt in den retikulären Zustand

übergeht. Die Region, die einen Balbiani-Ring bildet, besteht bei *Acricotopus* aus mehreren Querscheiben. Nach der Rückbildung besitzen die modifiziert gewesenen Chromosomenabschnitte eine etwas „unordentliche“ Querscheibenformierung und Säulenstruktur, d. h. ein Zusammenschluß zu einem einheitlichen Chromosomenkörper unterbleibt. Die Beschreibung, die MECHERKE für die Orte rückgebildeter Balbiani-Ringe gibt, können auch für die überwiegende Anzahl der sekundären Riesenchromosomen im NZK angewandt werden. Daß darüber hinaus Riesenchromosomen mit exakt gepaarten, einheitlichen Abschnitten zu finden sind, beweist, daß eine Konjugation zum einheitlichen Riesenchromosom möglich ist.

Mit Bestimmtheit kann unter die Voraussetzungen, die für die Riesenchromosomenbildung erfüllt sein müssen, das Beieinanderbleiben der Homologen gerechnet werden. Das schnelle Wachstum des Nährfachs bei Eiweißangebot im Überschuß, das kaum Zeit läßt für eine passive Lageveränderung der Tochterchromosomen, wird die Konzentrierung der Homologen sicherlich begünstigen. Unter Zugrundelegung eines Wachstumsfaktors 2 als Näherungswert durchlaufen die NZK vom Zerfall der primären Polytänchromosomen an bis zur Degeneration des Nährfachs alle 15 Std einen Endomitosezyklus. Wenn dem von RESCH (1952) an Blütenpflanzen gewonnenen Befund allgemeinere Bedeutung zukommt, daß eine lange Dauer der vorhergehenden Interphase die Trennung der Tochterchromosomen beim nächsten Mitoseschritt begünstigt (und vice versa), dann ist die rasche Folge von Endomitoseschritten im NZK nicht nur mechanisch-passiv, sondern auch physiologisch-aktiv für das Beieinanderbleiben der Homologen von Bedeutung.

Als zweite Voraussetzung zur Bildung der Riesenchromosomen muß eine Mindestlebensdauer der NZK nach Herausbildung der oligotänen Fibrillen angesehen werden. Der Vergleich *Drosophila* — *Calliphora* zeigt, daß bei der Schmeißfliege die Verhältnisse für die Riesenchromosomenbildung viel günstiger sind, weil hier die NZK noch eine längere Wachstumsperiode vor sich haben in der eine Konjugation der oligotänen Fibrillen eintreten kann. Vor dem Erscheinen dieser polytänen Elemente bieten die fadenförmigen Chromosomen, indem sie ihre Richtung vielfach und offensichtlich ohne Eigengesetzlichkeit wechseln, den Anblick eines wirren Knäuels. (Dies schließt aber das Vorhandensein einer gemeinsamen Grundrichtung unter den Homologen nicht aus.) Daß eine größere Anzahl solcher Chromosomen auch bei Vorhandensein spezifischer Paarungskräfte zur Deckung und exakten Paarung kommen könnte ist unwahrscheinlich. Das Heranwachsen zur oligotänen Fibrille bringt einen Übergang zu elastisch-stabförmiger Beschaffenheit mit sich. Dieser gestreckte Zustand der Chromosomen dürfte eine exakte Paarung erleichtern, vielleicht sogar erst ermöglichen.

Damit sind 2 Faktoren herausgestellt, die mit einem gewissen Grade von Wahrscheinlichkeit die sekundäre Riesenchromosomenbildung beeinflussen. In welchem Maße diese und andere noch nicht bekannte Komponenten des Zusammenschlusses der oligotänen Fibrillen von ernährungs- und entwicklungsphysiologischen sowie auch genetischen Voraussetzungen abhängig sind, kann erst durch weitere Untersuchungen geklärt werden.

Abschließend kann festgestellt werden, daß die Befunde am NZK einen Beleg für die von KOLTZOFF und BRIDGES begründete, von BAUER, PAINTER u. a. ausgebaute Polytänielehre darstellen, wie er eindeutiger nicht zu denken ist. Der scheinbare Gegensatz zwischen polytärer und retikulärer Struktur wird durch kontinuierliche Übergänge in beiden Richtungen ersetzt. Zwischen der Herausbildung der primären Polytänychromosomen und dem Ablaufen der Endomitosezyklen besteht ein enger Zusammenhang, der vermutlich auch auf späteren Stadien für die Bildung der Riesenchromosomen von Bedeutung ist.

Zusammenfassung

Das Wachstum der Nährzellkerne (NZK) von *Calliphora erythrocephala* wurde untersucht. Nach einer Periode reiner Zuckerfütterung wird den Fliegen Eiweißkost im Überschuß gegeben. In 4–6 Tagen danach reifen die Eier zur Ablage heran.

Im oktaploiden Interphase-NZK können mittels Phasenkontrast multiple Chromosomen in „kryptopolytärer“ Form nachgewiesen werden.

Das Vorkommen der bekannten Polytänychromosomen beschränkt sich auf die 16-ploide Kernphase. Der Auf- und Abbau des polytänen Zustandes erfolgt jeweils in einem Endomitosezyklus. Beim vorzeitigen Zerfall von einzelnen Polytänychromosomen wurden annähernd 16 Chromatidenpaare festgestellt. Der mittlere Wachstumsfaktor der NZK beträgt bis zum 16n-Stadium 2,53.

Der heterochromatische Abschnitt des Geschlechtschromosoms bildet sich während der Auflösung der Autosomen zu einem Endochromozentrum um, das während des fortschreitenden Kernwachstums erhalten bleibt und sich später weiter aufteilen kann.

Auf den Zerfall der Polytänychromosomen folgen 2 ausgeprägte Endomitosezyklen, danach bilden die Chromosomen ein stark feulgenpositives Kerngerüst, an dem ein Formwechsel der Chromosomen nicht mehr wahrgenommen werden kann. In NZK von 50μ \varnothing erscheinen „oligotäne Fibrillen“ als Produkt einer Chromosomenvermehrung in polytärer Form.

In den NZK von *Drosophila melanogaster* ist ebenfalls in fortschreitendem Maße ein Nachlassen der metaphasischen Kontraktion während der Endomitosen höherer Polyploidiestufen festzustellen. Dies

führt in der letzten Wachstumsphase in gleicher Weise wie bei *Calliphora* zur Ausbildung oligotäner Fibrillen.

Die homologen oligotänen Fibrillen von *Calliphora* zeigen allgemein eine Paarungstendenz, die in 14 von 95 Ovarien dieses fortgeschrittenen Wachstumsstadiums zu hochpolyploiden Chromosomenbündeln führte. In 11 von diesen 14 Eierstöcken waren Riesenchromosomen mit eindeutiger Querbänderung vorhanden. In den meisten Fällen erstreckt sich der Zusammenschluß der oligotänen Fibrillen zu einem einheitlichen Chromosomenkörper nicht über die ganze Chromosomenlänge.

Die Lage der Homologen im Kernraum wird mit Hilfe der Anordnung der Nucleolen und der X-Chromozentren untersucht. Nach vollzogenem sekundären Zusammenschluß bildet das X-Chromozentrum die zwei endständigen heterochromatischen Querscheiben, an denen das Geschlechtschromosom zu erkennen ist.

Die Bildung der sekundären Riesenchromosomen wird mit den Konjugationsvorgängen bei Rückbildung der Balbiani-Ringe und mit den Paarungen zwischen in diploider Anzahl auftretenden Speicheldrüsenchromosomen verglichen. Als Voraussetzung der Entstehung von Riesenchromosomen aus retikulären Kernen werden eine Polytänisierung der Chromonemen zu „oligotänen Fibrillen“ und eine vorherige Sonderung und Ballung der Homologen im Kernraum angesehen.

Literatur

- BAUER, H.: Die polyploide Natur der Riesenchromosomen. *Naturwiss.* 26, 77—78 (1938a). — *Cytogenetik. Fortschr. Zool., N. F.* 3, 434—460 (1938b). — In M. HARTMANN, *Allgemeine Biologie*, S. 339—341. Stuttgart: Gustav Fischer 1953. — BAUER, H., u. W. BEERMANN: Die Polytänie der Riesenchromosomen. *Chromosoma* 4, 630—648 (1952). — BEERMANN, W.: Chromomerenkonstanz und spezifische Modifikationen der Chromosomenstruktur in der Entwicklung und Organdifferenzierung von *Chironomus tentans*. *Chromosoma* 5, 139—198 (1952). — GETTLER, L.: Endomitose und endomitotische Polyploidisierung. In *Protoplasmatologia*, Bd. VI/C. Wien: Springer 1953. — GOLDSCHMIDT, E.: Studies on the synapsis in salivary chromosomes of hybrid *Chironomus* larvae. *J. Genet.* 48, 194—205 (1947). — HASITSCHKA, G.: Bildung von Chromosomenbündeln nach Art der Speicheldrüsenchromosomen, spiralisierte Ruhekernechromosomen und andere Struktureigentümlichkeiten in den endopolyploiden Riesenkernen der Antipoden von *Papaver rhoeas*. *Chromosoma* 8, 87—113 (1956). — HEITZ, E.: Die Ursache der gesetzmäßigen Zahl, Lage, Form und Größe pflanzlicher Nucleolen. *Planta (Berl.)* 12, 775—844 (1931). — KEUNEKE, W.: Über die Spermatogenese einiger Dipteren. *Z. Zellenlehre* 1, 357—412 (1924). — KUNZE, E.: Untersuchungen über die Paarungsaffinität bei Riesenchromosomen. *Chromosoma* 5, 501—510 (1953). — LIPP, C.: Über Kernwachstum, Endomitosen und Funktionszyklen in den trichogenen Zellen von *Corixa punctata* ILLIG. *Chromosoma* 5, 454—486 (1953). — MAINX, F.: The structure of the giant chromosomes in some diptera. *Proc. 8. Internat. Congr. Genetics. Hereditas (Lund) Suppl.* 1949, 622—623. — MECHTELKE, F.: Reversible Strukturmodifikationen der Speicheldrüsenchromosomen von *Acricotopus lucidus*. *Chromosoma* 5, 511—543 (1953). — METZ, C. W.: Structure

of salivary gland chromosomes. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 9, 23—39 (1941). — PÁTAU, K.: Chromosomenmorphologie bei *Drosophila melanogaster* und *Drosophila simulans* und ihre genetische Bedeutung. Naturwiss. 23, 537—543 (1935). — PAINTER, T. S.: The structure of salivary gland chromosomes. Amer. Naturalist 73, 315—330 (1939). — An experimental study of salivary chromosomes. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 9, 47—54 (1941). — PAINTER, T. S., u. E. C. REINDORF: Endomitosis in the nurse cells of the ovary of *Drosophila melanogaster*. Chromosoma 1, 276—316 (1939). — RESCH, A.: Untersuchungen über Kern-differenzierung in peripheren Zellschichten der Sprossachse einiger Blütenpflanzen. Chromosoma 5, 296—316 (1952). — STRASBURGER, E.: Über den Formwechsel des Chromatins in der Eientwicklung der Fliege *Calliphora erythrocephala* MEIGEN. Z. Zellforsch. 17, 83—117 (1933). — TSCHERMAK-WOESS, E.: Notizen über die Riesenkerne und „Riesenchromosomen“ in den Antipoden von *Aconitum*. Chromosoma 8, 114—134 (1956). — VERHEIN, A.: Die Eibildung der Musciden. Zool. Jb., Abt. Anat. u. Ontog. 42, 149—212 (1921). — WHITE, M. J. D.: The cytology of the *Cecidomyiidae* (Diptera) I. Polyploidy and polyteny in salivary gland cells of *Lestodiplosis* spp. J. of Morph. 78, 201—219 (1946). — The cytology of the *Cecidomyiidae* (Diptera). IV. The salivary gland chromosomes of several species. J. of Morph. 82, 53—80 (1948). — Animal cytology and evolution, 2. Aufl. Cambridge: University Press 1954. 454 S.

Dr. KARLHEINZ BIER, Zoologisches Institut der Universität,
Würzburg, Röntgenring 10

Aus dem Botanischen Institut der Universität Wien

ÜBER DAS REGELMÄSSIGE AUFTRETEN
VON „RIESENCHROMOSOMEN“
IM CHALAZAHAUSTORIUM VON RHINANTHUS

Von

ELISABETH TSCHERMAK-WOESS

Mit 10 Textabbildungen

(Eingegangen am 12. November 1956)

Einleitung

Bei Pflanzen wurden Bildungen, die den Riesenchromosomen der Dipteren in gewissem Maß vergleichbar sind, bisher bloß von *Papaver rhoeas* (HASITSCHKA 1956) und einigen *Aconitum*-Arten (TSCHERMAK-WOESS 1956) beschrieben. Sie treten bei diesen in den regelmäßig hypertrophierten und hoch endopolyploiden Antipoden auf, fanden sich jedoch mit Ausnahme einer einzigen Sippe von *Papaver rhoeas* (vgl. HASITSCHKA 1956, S. 110) bisher nur mehr oder minder sporadisch, indem die Mehrzahl der Antipoden verschiedenartige andere Ruhekernstrukturen zeigte (vgl. hierzu im einzelnen die zitierten Publikationen, auf die zwecks Vermeidung von Wiederholungen ausdrücklich verwiesen sei)¹. Die pflanzlichen Riesenchromosomen (oder „Riesenchromosomen“)² entstehen so wie die Riesenchromosomen der Dipteren im Verlauf der endomitotischen Polyploidisierung, wobei die aus einem Ausgangschromosom hervorgehenden Tochterchromosomen gebündelt bleiben. Bei den Dipteren sind die Abkömmlinge sehr exakt aneinandergelegt, indem sich bekanntlich Chromomer an Chromomer fügt und so die Bänder oder Querscheiben zustande kommen. Bei den pflanzlichen Riesenchromosomen bestehen zwischen den übereinstimmenden Teilen der Tochterchromosomen zwar offensichtlich auch Anziehungskräfte und es finden sich mitunter auch Strukturen, die Bändern gleichkommen (vgl. TSCHERMAK-WOESS, 1956, über *Aconitum variegatum*), regelmäßige Scheibenbildung und eine exakte Paarung — Paarung nicht im Sinne von Homologenpaarung, sondern im Sinn der Vereinigung von endomitotischen Tochterchromosomen — wie bei den

¹ Von der erwähnten Sippe von *Papaver* standen leider nur Mikrotomschnitte zur Verfügung; diese sind für ein eingehenderes Studium nicht geeignet; auch enthielten sie nur ein einziges, fortgeschrittenes Entwicklungsstadium.

² Durch die Beifügung „pflanzlich“ bzw. durch die Anführungszeichen soll zum Ausdruck gebracht werden, daß gegenüber den tierischen Riesenchromosomen gewisse Unterschiede bestehen.

Dipteren ist vorderhand jedoch nicht bekannt. Einen weiteren Unterschied bedeutet es, daß die bis jetzt aufgefundenen voll entwickelten pflanzlichen Riesenchromosomen im Vergleich zu den Chromosomen der mitotischen Metaphase nur ungefähr auf das 10fache verlängert sind, während die Riesenchromosomen der Dipteren eine 100fache Verlängerung erreichen. Diesen Unterschied versuchten wir damit zu erklären, daß bei Pflanzen ebenso wie bei den Dipteren die Längenzunahme allmählich und parallel mit der zunehmenden Polyploidisierung (und Polytänisierung) erfolgt, bei Pflanzen aber nur wesentlich niedrigere Polyploidiestufen auftreten und damit auch nur eine geringere Verlängerung vor sich gehen kann. Ein eingehenderer Vergleich jüngerer und älterer pflanzlicher Riesenchromosomen war jedoch bisher noch nicht möglich. Dieser Frage nachzugehen, soweit es das Objekt gestattete, war eines der Ziele der vorliegenden Arbeit.

Zur Vertiefung der Kenntnisse der pflanzlichen Riesenchromosomen müssen wohl 2 Wege eingeschlagen werden. Einerseits wäre extensiv vorzugehen, nämlich eine größere Zahl von Arten und bei bestimmten, wie etwa *Papaver* und *Aconitum*, mehrere Sippen einer Art und diese unter verschiedenen Außenbedingungen vergleichend zu untersuchen, um über die Bedingungen Aufschluß zu erhalten, die für die Bildung von „Riesenchromosomen“ maßgebend sind; andererseits müßte man sich mit einer geeigneten Art oder Sippe intensiv befassen und beispielsweise die Struktur bestimmter „Riesenchromosomen“, etwa solcher vom Muster von *Aconitum variegatum*, eingehend analysieren. Letzteres läßt sich bei *Rhinanthus* nicht durchführen. Zur ersteren Fragestellung soll die vorliegende Arbeit einen Beitrag liefern. Darüber hinaus dürften Beobachtungen über das Verhalten der Nukleolen von Interesse sein.

Methodik

Die Lage des Chalazahaustoriums von *Rhinanthus alectorolophus* (SCOP.) POLL. (= *Alectorolophus hirsutus* ALL.) — und das gleiche gilt für die stichprobenartig untersuchten Arten *Rh. minor* L. (= *Alectorolophus minor* [L.] WIMM. et GRAB.) und *Rh. aristatus* CEL. (= *Alectorolophus angustifolius* AYT.) — läßt sich an etwas herangewachsenen und bei gewisser Übung auch an relativ jungen Samenanlagen (3–4 Tage nach dem Erblühen) schon mit freiem Auge von außen erkennen. In der Regel wurde die chalazale Region mitsamt dem Chalazahaustorium von den übrigen Teilen der Samenanlage abgeschnitten; nur ganz junge Samenanlagen wurden bloß am Funikulus abgetrennt. Bei Fixierung in Alkohol-Eisessig 3:1 zeigte sich eine gewisse Fixierunlabschlägigkeit (vgl. dazu auch S. 537); es wurde deshalb das Mischungsverhältnis von 3:1 bis 9:1 variiert, probeweise auch Alkohol verschiedener Konzentration, Carnoy (Alkohol-Eisessig-Chloroform) und Flemming (schwaches Gemisch) angewendet, doch ergab sich hierdurch keine Verbesserung, weshalb wieder zu Alkohol-Eisessig 3:1 übergegangen und mangelhaft fixiertes Material ausgeschieden wurde. Zur Färbung diente Oeinessigsäure (warm, versuchsweise kalt, was aber nicht von Vorteil war); daneben wurde auch die Feulgen-Reaktion durchgeführt. Nach der Färbung wurden die Samenanlagen

oder ihre chalazalen Teile in einen Tropfen 45%ige Essigsäure (es empfiehlt sich ein geringer Zusatz von Orceinessäure, da andernfalls die Färbung verblaßt) gebracht und mit zwei feinen Nadeln unter dem Präpariermikroskop das Chalazahaustorium und eventuell auch andere Teile des Endosperms freigelegt. Ersteres gelang in der Regel sehr leicht; das Haustorium und auch die ihm oft noch anhaftenden Teile des eigentlichen Endosperms lassen sich ohne irgendeinen Widerstand aus der Höhlung der Samenanlage herausziehen. Hierin unterscheidet es sich deutlich vom Mikropylarhaustorium, von dem sich nur Bruchstücke bloßlegen lassen. Die Präparate wurden mit Hilfe von Euparal in Dauerpräparate von zum Teil befriedigender Qualität umgewandelt.

Die Kernmessungen wurden so durchgeführt, daß 2 Kerndurchmesser mit dem Okularmikrometer, der dritte mit Hilfe der Skala an der Mikrometerschraube bestimmt wurde. Das Kernvolumen wurde nach der Formel für das Rotationsellipsoid berechnet, wobei der Faktor $4\pi/3$ weggelassen wurde, da es nur auf Vergleichswerte ankam.

Die Untersuchungen wurden im Sommer 1956 an der Biologischen Station in Lunz (Niederösterreich) durchgeführt. Das Pflanzenmaterial stammte von den umliegenden Wiesen und zum Teil auch von etwas entfernteren Örtlichkeiten (die Fundorte von *Rhinanthus alectorolophus* lagen zum Teil rund 3 km voneinander entfernt.)

Beobachtungen

Der Aufbau und die Entwicklungsgeschichte der Samenanlagen von *Rhinanthus* (= *Alectorolophus*) wurde von SCHMID (1906) an den Arten *Rhinanthus alectorolophus* (über die Synonymie vgl. S. 524) und *Rh. minor* klargelegt. So wie bei vielen anderen Scrophulariaceen gliedert sich das Endosperm bei dieser Gattung in 3 Abschnitte: einen mikropylaren, aus dem das Mikropylarhaustorium hervorgeht, einen mittleren, der das eigentliche, zellulär gebaute Endosperm darstellt, und einen chalazalen, dem gleichfalls Haustorialfunktion zugeschrieben wird. Der mikropylare besteht in einem frühen Entwicklungszustand aus zwei zweikernigen Kammern (Abb. 1b); aus der dem Hilus näherliegenden wächst dann ein schlauchartiger Fortsatz hervor, in den die beiden hypertrophierten Kerne einwandern, und schließlich löst sich die Trennungswand zwischen den beiden Kammern in ihrem oberen Teil auf und einer der beiden vergrößerten Kerne der vom Hilus abgewendeten Kammer gelangt gleichfalls in den Fortsatz des Mikropylarhaustoriums. Dieses dringt bis zur Plazenta vor, wo es sich verzweigt. Das eigentliche Endosperm soll anfangs aus 4 in 2 Schichten liegenden Zellreihen bestehen — ich fand öfters nur zwei in *einer* Schicht (dies wechselt vermutlich je nach der Orientierung der Kernspindeln in den ersten Mitosen); später wächst es entsprechend der Abflachung des Samens hauptsächlich in die Breite und wird nur wenige Zellschichten dick. Das Chalazahaustorium bildet keine besonderen Fortsätze, sondern entwickelt sich zu einer großen, gekrümmten Kammer mit zwei hypertrophierten Kernen (Abb. 1b, 2a). An seinem chalazalen Ende zeigt es oft eine kleine fingerartige Einstülpung, in die Reste der Anti-

poden und des dort verholzten Nuzellus ragen. — Abgesehen von der oben erwähnten, nicht sehr wesentlichen Ausnahme kann ich die Angaben von SCHMID bestätigen. Meine Beobachtungen sind allerdings in bezug auf den mikropylaren Teil nicht ganz vollständig. Sie beziehen sich in der Hauptsache auf *Rhinanthus alectorolophus*; *Rh. minor* und *Rh. aristatus* untersuchte ich nur flüchtig zu Vergleichszwecken; sie stimmen in Bau und Entwicklung der Samenanlagen sowie hinsichtlich der regelmäßigen Ausbildung von „Riesenchromosomen“ mit *Rh. alectorolophus* offenbar überein.

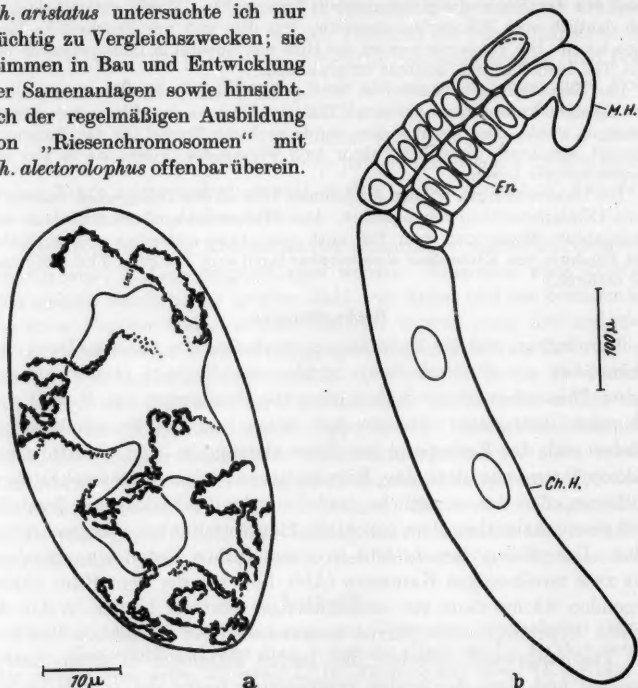


Abb. 1a u. b. *Rhinanthus alectorolophus*. a Dodekaploider Kern, an den vierwertigen „Riesenchromosomen“ in Abrollung begriffene Restspiralen zu erkennen; b junges Endosperm, 2–3 Tage nach der Anthese (M.H. Mikropylarhaustorium, En eigentliches Endosperm, Ch.H. Chalazahaustorium; der obere Kern desselben in Abb. 1a stärker vergrößert). Alkohol-Eisessig, Orceinssigsäure

Die hypertrophierten Kerne des mikropylaren Abschnittes und des Chalazahaustoriums muß man auf Grund der in den letzten Jahren an anderen Arten gesammelten Resultate als hoch endopolyploid ansprechen (Literatur bei GEITLER 1953 und TSCHERMAK-WOESS 1956a). Sie wachsen nämlich in einem Ausmaß heran, wie es nur bei Polyploidisierung üblich ist, und gleichzeitig wird das Chromatin und die Nukleolarsubstanz sehr auffallend vermehrt. Das Mikropylarhaustorium und

das Chalazahaustorium stimmen hierin und in bezug auf die Kernstruktur überein. Doch dürften die Kerne des Mikropylarhaustoriums etwas niedrigere Polyploidiegrade erreichen als die des Chalazahau-

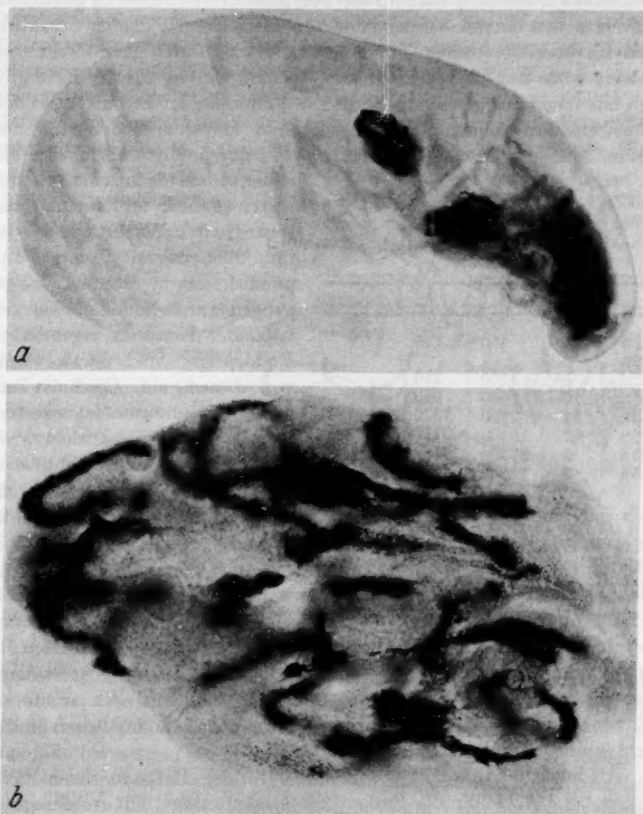


Abb. 2 a u. b. *Rhinanthus alectorolophus*. a Bloßgelegtes Chalazahaustorium; b linker, 192-ploider Kern desselben bei stärkerer Vergrößerung. — Alkohol-Eisessig, Orceinssigsäure. Phot. Vergr. 95- bzw. 700fach

storiums. Sie konnten allerdings nur gelegentlich beobachtet werden, da sich mittels der eingangs geschilderten Methodik (die aber in bezug auf die Erhaltung der Kernstrukturen der Mikrotomtechnik bei weitem überlegen ist) nur Bruchstücke des Mikropylarhaustoriums isolieren

lassen, sobald es sich etwas verlängert hat. Das Chalazahaustorium ist dagegen, wie erwähnt, leicht zugänglich und wurde deshalb näher untersucht.

Um einen Anhaltspunkt für die Polyploidieverhältnisse zu gewinnen, wurden neben der im Vordergrund des Interesses stehenden Strukturanalyse, über die weiter unten berichtet wird, auch Kernmessungen, letztere aber nur in beschränktem Ausmaß durchgeführt. Es ergibt sich aus ihnen das gewohnte Bild. Die Volumina der heranwachsenden Haustorialkerne bilden nämlich nicht eine kontinuierlich ansteigende Reihe, sondern ordnen sich zu Gruppen, deren Mittelwerte sich an-

Tabelle 1. *Mittlere Volumina (M) der heranwachsenden, endopolyploiden Kerne aus dem Chalazahaustorium (vgl. im einzelnen den Text)*

| | N | M | σ |
|------|----|-------|----------|
| 3n | 15 | 450 | 140 |
| 6n | 0 | | |
| 12n | 6 | 2200 | 210 |
| 24n | 10 | 4000 | 680 |
| 48n | 12 | 9200 | 1330 |
| 96n | 12 | 16400 | 3170 |
| 192n | 9 | 37200 | 7480 |
| 384n | 3 | 73300 | |

$P < 0,01$

nähernd wie 1:2:4:8 usw. verhalten (Tabelle 1). Es erfolgt also sprunghaftes Wachstum, wie es für die endomitotische Polyploidisierung typisch ist. Ausgegangen wurde vom Volumen der triploiden Kerne im eigentlichen Endosperm; und zwar wurde von diesem ein Abschnitt mit niedriger Teilungsrate vorgenommen, um im wesentlichen wirklich triploide und nicht etwa solche Kerne heranzuziehen, die

sich mit einer Vergrößerung auf die Mitose vorbereiten (vgl. über das intermitotische Kernwachstum DOLEŽAL und TSCHERMAK-WOESS sowie TSCHERMAK-WOESS und DOLEŽAL und die dort besprochene Literatur). Hexaploide Kerne des Chalazahaustoriums wurden offensichtlich nicht erfaßt, obwohl bereits 48 Std nach Beginn der Anthese mit der Untersuchung und den Messungen begonnen wurde; d.h. also, es müssen Bestäubung, Befruchtung, 2 Mitosen auf der triploiden Stufe (von denen die erste zur Abgliederung des Chalazahaustoriums, die zweite zur Entstehung der 2 Kerne in diesem führt) und 2 Endomitosen in diesem kurzen Zeitraum ablaufen.

Als höchste Stufe tritt 384-Ploidie auf, doch dürfte in vielen Fällen schon bei 192-Ploidie die Endomitosetätigkeit eingestellt werden. Von neun jeweils aus dem gleichen Chalazahaustorium stammenden Kernpaaren gehören in 7 Fällen die beiden Schwesterkerne offenbar der gleichen, in 2 Fällen benachbarten Polyploidiestufen an; bei den letzteren handelte es sich um Fälle relativ hoher Polyploidiegrade.

In bezug auf die Struktur der Kerne des Chalazahaustoriums fällt in erster Linie auf, daß sie ausnahmslos bei allen untersuchten Pflanzen chromatische Gebilde enthalten, die man nach den Erfahrungen an *Papaver* und *Aconitum* (HASITSCHKA 1956, TSCHERMAK-WOESS 1956b)

als pflanzliche Riesenchromosomen ansehen muß. Das heißt es liegen in den Ruhekernen dichte Bündel aus endomitotisch entstandenen, gerade gestreckten Tochterchromosomen, die einen Chromomerenbau analog dem Chromomerenbau von Pachytänchromosomen aufweisen¹. Irgendwelche andere Strukturtypen, wie etwa Kerne mit typischen Endochromozentren nach dem Muster von *Lupinus*, *Cucurbita* oder *Sinapis* und vielen anderen Pflanzen (vgl. z.B. GEITLER 1941, TSCHERMAK-WOESS und HASITSCHKA, SCHLICHTINGER) gibt es also nicht.

Legt man zunächst die Verhältnisse in Kernen mittleren bis hohen Polyploidiegrades zugrunde, so zeigt sich im einzelnen folgendes: Die Zahl der „Riesenchromosomen“ entspricht erwartungsgemäß der triploiden Chromosomenzahl von $3n=21$. So wie die Chromosomen in diploiden Mitosen aus dem Integument (Abb. 3a) und in triploiden Teilungen aus dem eigentlichen Endosperm (Abb. 3b, e, f) zeigen die „Riesenchromosomen“

eines Kernes nicht sehr

wesentliche Längenunterschiede; immerhin läßt sich hier wie dort eine Kategorie etwas kürzerer Chromosomen von längeren unterscheiden. Die Anzahl der kürzeren wurde zwar nicht genau bestimmt, es überwiegen aber jedenfalls bei weitem die längeren. Auch in bezug auf andere Baueigenlichkeiten besitzt das Idiogramm von *Rhinanthus* keine markanten Eigenschaften, auf Grund deren man bestimmte Chromosomen wieder erkennen könnte. Die Spindelansatzstellen zeigen sich an den mitotischen Chromosomen als deutliche Einschnürungen oder Unterbrechungen, und zwar bei allen in subterminaler Lage (Abb. 3a, b, e, f); an den „Riesen-

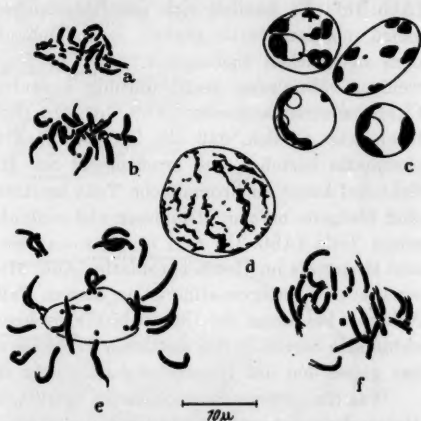


Abb. 3a—f. *Rhinanthus alectorolophus*. a Diploide Prophase aus dem Integument; b triploide Prometaphase aus dem eigentlichen Endosperm (unvollständig); c diploide Ruhekern aus dem Integument; d triploider Ruhekern und e, f Prophasen aus dem eigentlichen Endosperm (vgl. im einzelnen den Text). — Alkohol-Eisessig, Oroleinssäure

¹ Ob die Chromomeren der „Riesenchromosomen“ mit den Pachytänchromomeren identisch sind, läßt sich allerdings nicht sagen. — Die in letzter Zeit diskutierte Frage, ob die Chromomeren korpuskuläre Gebilde oder Orte einer dichteren submikroskopischen Spiralisierung sind, ist in diesem Zusammenhang nicht wichtig.

chromosomen“ treten sie *nicht* hervor. Ebenso bietet die Verteilung von Heterochromatin und Euchromatin keine Handhabe zum Wiedererkennen. Schon auf Grund des Baues der diploiden Kerne aus dem Integument muß man annehmen, daß das Idiogramm reich an Heterochromatin ist. Sie enthalten nämlich meist nur wenige (gewöhnlich 2—5, selten bis 10), relativ große, schollige Chromozentren, die zum Teil eigenartig kahnförmig sind und die Nukleolen förmlich umschließen (Abb. 3c). Es handelt sich um Sammelchromozentren, wie der Vergleich mit den relativ großen, locker gebauten triploiden Kernen aus dem eigentlichen Endosperm ergibt, in denen relativ viel mehr, aber weniger voluminöse, recht unruhig konturierte, gewöhnlich längliche Chromozentren auftreten (Abb. 3d). In diploiden und triploiden Mitosen zeigt es sich, daß alle Chromosomen zum Großteil aus Heterochromatin bestehen und anscheinend nur an den Enden der längeren Schenkel kurze euchromatische Teile besitzen (Abb. 3a, b, e, f). Diese sind übrigens bis zur *Metakinese* viel schlanker als die heterochromatischen Teile (Abb. 3b) und die Chromatiden spreizen in ihnen weiter und länger als im Heterochromatin (Abb. 3f). Der Spiralisierungsformwechsel des Euchromatins ist in diesem Fall im Vergleich zu anderen Arten — bei denen der Unterschied zwischen Euchromatin und Heterochromatin bereits in der mittleren Prophase ausgeglichen wird — offenbar gegen den des Heterochromatins sehr stark verschoben.

Was die „Riesenchromosomen“ betrifft, so verteilen sich auf ihnen Heterochromatin und Euchromatin so wie bei den mitotischen Chromosomen. Doch tritt im Heterochromatin noch eine weitere Differenzierung zutage; bei allen Chromosomen baut sich nämlich ein kurzer Endabschnitt, welcher wohl die — wie oben erwähnt, nicht sichtbare — Spindelansatzstelle enthält und bei den meisten Chromosomen mit einem Nukleolus in Verbindung steht (vgl. unten) aus kompaktem Heterochromatin auf; daran schließt sich ein längeres, den Hauptteil der Chromosomen ausmachendes Mittelstück aus lockerem, chromomerisch gegliedertem Heterochromatin an; erst auf dieses folgt der kurze euchromatische Endteil, welcher kleinere und schwächer färbare Chromomeren enthält, die sich zu deutlichen, meist stark spreizenden Fäden aneinanderreihen (Abb. 6, 7a). Während sich zwischen kompaktem und lockerem Heterochromatin eine kurze Übergangszone mit mehr minder stark verklebten Heterochromomeren einschiebt, ist der Übergang vom lockeren Heterochromatin zum Euchromatin unvermittelt. Es besteht also *nicht* ein durchgehendes allmähliches Gefälle der Chromasie vom kompakten Heterochromatin zum Euchromatin.

Bei dem Versuch die SAT-„Riesenchromosomen“ einer näheren Analyse zu unterziehen, ergaben sich die folgenden bemerkenswerten Verhältnisse. Während nämlich im eigentlichen Endosperm 9 Chromo-

somen mit dem Nukleolus (meist ist in Prophasen nur ein Nukleolus vorhanden) in Verbindung stehen (Abb. 3e), stecken in den Kernen des Chalazahaustoriums bis zu 17 (10—17, am häufigsten 15 oder 16) „Riesenchromosomen“ mit ihren heterochromatischen Enden in einem Nukleolus (Abb. 4a, b); dabei gibt es gewöhnlich neben einem oder zwei größeren, unregelmäßig geformten, oft verästelten Nukleolen

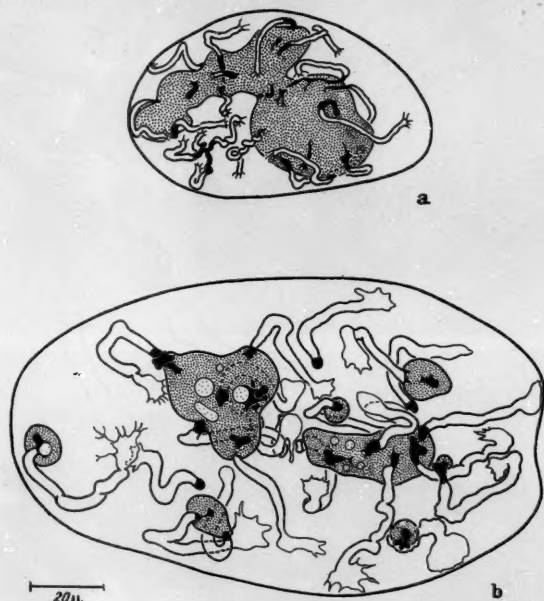


Abb. 4a u. b. *Rhinanthus alectorolophus*. a Wahrscheinlich 48-ploider und b 193-ploider Kern aus einem Chalazahaustorium (bei a nicht alle „Riesenchromosomen“ eingezeichnet). Alkohol-Eisessig, Orceinssigsäure

mehrere kleine und auch ganz kleine (Abb. 4); die letzteren sehen häufig so aus, als ob sie gerade erst entstanden wären. Für diese Deutung sprechen besonders Fälle, wie der in Abb. 6a wiedergegebene, wo das „Riesenchromosom“ nicht (wahrscheinlich *noch* nicht) von Nukleolarsubstanz umwallt ist, sondern an seinem Ende aus kompaktem Heterochromatin zwei kleine und einen ganz kleinen Nukleolus trägt. In solchen Fällen ist der heterochromatische Endabschnitt einheitlich, in anderen, wie dem in Abb. 6c dargestellten, ist er eingeschnürt und schließlich kann er durch die Einschaltung des Nukleolus auch zerlegt sein, so daß ein Satellit abgetrennt vom eigentlichen „Riesenchromosom“

vorliegt (Abb. 9, 10c); häufig spannen sich zwischen dem Satelliten und dem eigentlichen Chromosom noch einzelne (1 oder 2) feine Fäden aus oder tragen beide einander zugewendet mehr minder kurze Faden-

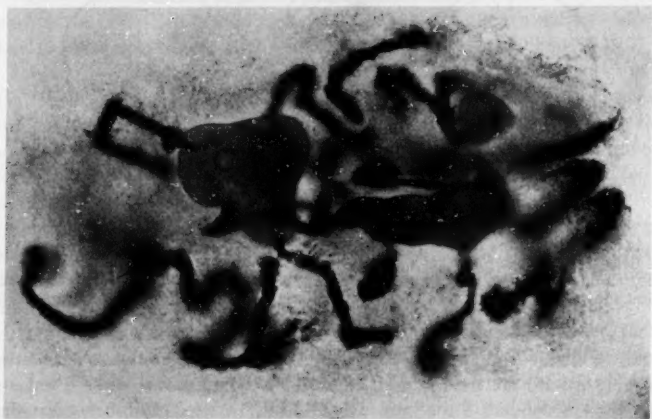


Abb. 5. *Rhinanthus alectorolophus*. Der gleiche 192-ploide Kern wie in Abb. 4b in zwei optischen Einstellungen. — Alkohol-Eisessig, Orceinessigsäure. Phot. Vergr. 700fach

ansätze (Abb. 9). Diese Beobachtungstatsachen sind wohl so zu verstehen, daß bei gesteigerter Funktion von Zelle und Kern und bei gesteigerter Produktion von Nukleolarsubstanz diese auch an anderen „Riesenchromosomen“ als an den angestammten SAT-Chromosomen angesammelt wird (vgl. im übrigen die Diskussion).

Die Entwicklung der Kerne im Chalazahaustorium und vor allem der „Riesenchromosomen“ ist wohl folgendermaßen zu rekonstruieren. Wenn auch die ersten Entwicklungsstadien nicht verfolgt wurden, so kann man doch so gut wie sicher annehmen, daß die beiden Kerne des Chalazahaustoriums vor Einsetzen der Polyploidisierung die gleiche lockere Struktur wie die triploiden Kerne des jungen eigentlichen Endosperms aufweisen, d.h. also längliche, stellenweise in flache Spiralschleifen gelegte Chromozentren enthalten (vgl. nochmals Abb. 3d).

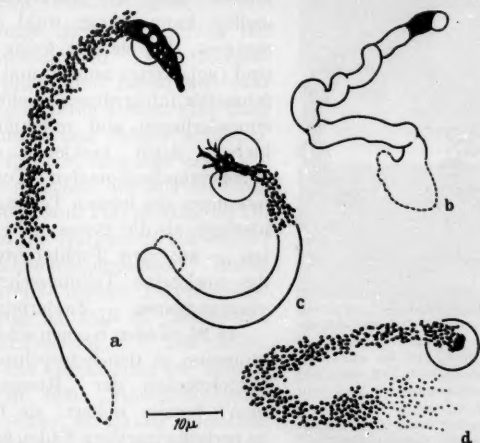


Abb. 6a—d. *Rhinanthus alectorolophus*. a—d „Riesenchromosomen“ mit Nukleolen (vgl. im einzelnen den Text). — Alkohol-Eisessig, Orceinssigsäure

Die meisten dieser Chromozentren bestehen nach ihrer Form und Zahl zu urteilen höchstwahrscheinlich aus den heterochromatischen Teilen eines Chromosoms, und nur einzelne stellen Sammelbildungen dar, die von 2 oder 3 Chromosomen stammen. Wie im Verlauf von 2 Polyploidisierungsschritten aus Kernen dieses Baues Kerne vom Typus des in Abb. 1a wiedergegebenen entstehen, kann man sich leicht vorstellen, denn auch hier finden sich längliche Chromozentren mit unregelmäßigen in Abwicklung begriffenen Spiralen; einzelne Chromozentren schließen noch zu nicht gut auflösbaren Sammelbildungen zusammen; bei der Mehrzahl ist es aber klar, daß es sich um nichts anderes als um junge „Riesenchromosomen“ handelt. Denn so wie die älteren besitzen sie an einem Ende einen kurzen, oft knöpfchenartigen Abschnitt aus dichterem Heterochromatin, anschließend einen etwas lockerer gebauten, gleichfalls heterochromatischen Teil und ein kurzes sich aus Körnchen

zusammensetzendes euchromatisches Endstück; im Mittelteil kann man häufig zwei in flachen Windungen umeinandergelegte Längselemente erkennen und stellenweise zeigt sich auch in diesen beiden Längselementen noch ein ganz analoger Doppelbau. Es sind also im ganzen offenbar 4 Fäden = endomitotische Tochterchromosomen in jedem dieser jungen „Riesenchromosomen“ vorhanden und dies stimmt gut zu der auf Grund des Volumens ermittelten Polyploidiestufe von $12n$. Daß man im Mittelteil junger „Riesenchromosomen“ nicht so wie in

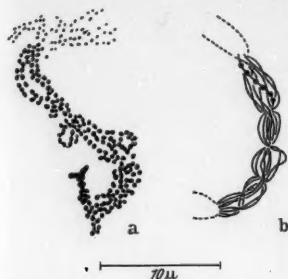


Abb. 7 a u. b. *Rhinanthus alectorolophus*. a „Riesenchromosom“ aus einem 24-ploiden Kern (von den acht stellenweise sichtbaren Längselementen zum Teil nur drei bzw. vier im optischen Schnitt dargestellt); b Teil eines anderen „Riesenchromosoms“ aus dem gleichen Kern, schematisiert (Chromomeren nur an einer Stelle eingetragen). Alkohol-Eisessig, Orcein-Säure

älteren einen Chromomerenbau feststellen kann, hängt wohl damit zusammen, daß sie erst wenig gestreckt sind (vgl. weiter unten), und die Chromomeren infolgedessen dichter nebeneinanderliegen und miteinander verkleben. Auch verkleben die enger nebeneinanderliegenden Tochterchromosomen des letzten Teilungsschrittes häufiger als die etwas weiter getrennten — aus den Tochterchromosomen des vorletzten Teilungsschrittes hervorgegangenen — Zweierbündel.

In 24-ploiden Kernen sind die Chromomeren in den heterochromatischen Mittelstücken der „Riesenchromosomen“ bereits isoliert; sie fügen sich zu perlschnurartigen Fäden aneinander, die sich an günstigen Stellen sehr gut fixierter Kerne auf kürzere und auch längere Strecken verfolgen und zu acht je „Riesenchromosom“ auszählen lassen. Eine Vorstellung vom Aussehen solcher achtwertiger „Riesenchromosomen“ soll die Zeichnung der Abb. 7a und die Photographie der Abb. 8b vermitteln; beide stellen optische Schnitte dar. Den räumlichen Aufbau gibt die schematisierte Abbildung eines anderen „Riesenchromosoms“ wieder (Abb. 7b). Sie zeigt, wie je 2 Chromosomen, nämlich die Schwesterchromosomen des letzten Teilungsschrittes relativ eng nebeneinanderliegen. — In Kernen höheren Polyploidiegrades mit ihrer offensichtlich höheren Anzahl von Einzelelementen in den „Riesenchromosomen“ gelang es nicht, diese genau auszuzählen. Jedenfalls geht die Vermehrung allem Anschein nach weiterhin rhythmisch und in allen „Riesenchromosomen“ synchron vor sich.

Der Beginn der natürlichen Degeneration des Chalazahaustoriums und seiner Kerne äußert sich an den „Riesenchromosomen“ so, daß sie feinkörniger werden, sich zunächst abflachen und daß dann die Chromo-

somenfäden, aus denen sie sich zusammensetzen, sich ausbreiten und spreizen, so wie es normalerweise für die euchromatischen Endstücke charakteristisch ist. Nur in den extrem heterochromatischen Teilen wird die Bündelung beibehalten, doch erscheinen auch sie wie alles übrige „magerer“. Die Kernumrisse werden unterdessen unregelmäßiger, da sich von der Oberfläche her Furchen gegen das Innere verschieben und endlich kommt es zu den bekannten pyknotischen Veränderungen.

Zur Frage der Verlängerung der „Riesenchromosomen“ mit steigendem Polyploidiegrad lassen sich zwar keine völlig exakten Daten, aber doch Beobachtungen und Zahlen anführen, die sehr für die eingangs erwähnte Hypothese sprechen, wonach der Grad der Streckung vom Polyploidiegrad abhängig und die stärkere Streckung der Dipteren-Riesenchromosomen durch die bedeutend höhere Polyploidisierung bedingt ist. Daß es parallel mit der Polyploidisierung, d.h. also gleichzeitig mit der Vermehrung der Einzelelemente in den „Riesenchromosomen“, zu einer Streckung derselben kommt, wird ohne weiteres klar, wenn man beispielsweise die beiden Kerne der Abb. 4 miteinander vergleicht. An der Verlängerung sind offenbar verschiedene Faktoren beteiligt. Zunächst werden die von der letzten Mitose her im Heterochromatin er-

haltenen Restspiralen abgerollt; man findet nämlich besonders zahlreich an jungen vierwertigen „Riesenchromosomen“ schraubige Windungen, die man nur als Restspiralen auffassen kann (Abb. 1a), und auch an älteren „Riesenchromosomen“ sind häufig analoge Bildungen anzutreffen (s. z. B. Abb. 6b). Außerdem scheinen die einzelnen die „Riesenchromosomen“ zusammensetzenden Zweierbündel in jüngeren „Riesenchromosomen“ in steileren Windungen umeinandergelegt zu sein und förmlich eigenwilliger zu verlaufen als in älteren (Abb. 7b). Die Umriss der ersteren sind daher durch das Vorragen von Schlingen unregelmäßig, während in älteren „Riesenchromosomen“ die Einzelelemente mehr geradlinig und gleichsinnig verlaufen dürften, wodurch

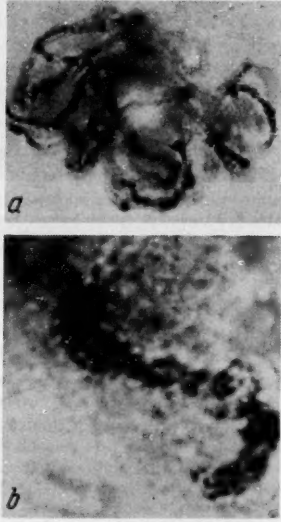


Abb. 8a u. b. *Rhinanthus alectorolophus*. a 24-ploider Kern aus einem Chalazahaustorium; b „Riesenchromosom“ aus demselben bei stärkerer Vergrößerung (das gleiche wie in Abb. 7a). — Alkohol-Eisessig, Orcein-essigsäure. Phot. Vergr. 700- bzw. 3000fach

eine regelmäßigere, zylindrische Form zustande kommt. Vielleicht ist dieser Bau auch mit eine Ursache dafür, daß sich in älteren „Riesenchromosomen“ die einzelnen Fäden nicht so leicht verfolgen lassen.

Allein mit der Annahme der Abwicklung von Restspiralen etwa einer 1. Kategorie und von lichtmikroskopischen Dimensionen wird

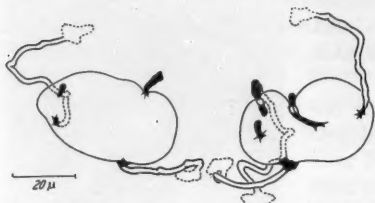


Abb. 9. *Rhinanthus alectorolophus*. Sechs (von insgesamt 12) mit den Nukleolen in Verbindung stehende „Riesenchromosomen“ aus einem 96-ploiden Kern (vgl. im einzelnen den Text). — Alkohol-Eisessig, Orceinssigsäure

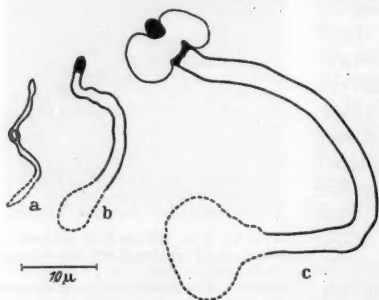


Abb. 10a—c. *Rhinanthus alectorolophus*. „Riesenchromosomen“ aus Kernen verschiedenen Ploidiegrades. a 12n; b 24n; c 96n (Umrisszeichnungen, bei a Restspiralen nicht eingetragen!). — Alkohol-Eisessig, Orceinssigsäure

Abb. 3b zugrunde, so beträgt die Verlängerung bei einem „Riesenchromosom“ eines dodekaploiden Haustorialkernes ungefähr das 5fache, bei 24-Ploidie ist sie 7fach und bei 96-Ploidie 17fach (Abb. 10). „Riesenchromosomen“ aus noch höher polyploiden Kernen wurden nicht ausgemessen, doch sind sie offensichtlich noch weiter verlängert. Jedenfalls wird bei *Rhinanthus* eine Streckung erreicht, die die von *Papaver* und *Aconitum*, bei denen sie im Vergleich zu Metaphasechromosomen ungefähr das 10fache beträgt¹, deutlich übertrifft.

¹ Die betreffenden Kerne sind bei *Papaver* höchstwahrscheinlich und bei *Aconitum* vermutlich 64-ploid (vgl. HASITSCHKA 1956, TSCHERMAK-WOESS 1956b).

man allerdings nicht auskommen, um die Längenzunahme zu erklären; und auch die Ausglättung innerer Windungen wird nicht ausreichen, sondern es muß wohl noch zur Abwicklung von Spiralen höherer Ordnung und geringerer Dimensionen kommen.

Was das Ausmaß der Längenzunahme betrifft, so ließ sich leider ein exakter Vergleich an einem bestimmten „Riesenchromosom“ wegen der Einheitlichkeit des Idiogramms (vgl. S. 529) nicht durchführen; doch wurde jeweils eines der kürzeren „Riesenchromosomen“ herausgegriffen und zu einem kurzen mitotischen Chromosom in Beziehung gesetzt, um zumindest einen gewissen Anhaltspunkt zu bekommen. Legt man etwa ein Chromosom der Prometaphase der

Ein *endomitotischer Strukturwechsel* nach dem Muster anderer Angiospermen (vgl. GEITLER, zuletzt 1953, TSCHERMAK-WOESS und HASITSCHKA, DEUFEL, TSCHERMAK-WOESS, 1954, DOLEŽAL und TSCHERMAK-WOESS, STEFFEN, SCHLICHTINGER) wurde nicht beobachtet. Daraus kann man aber nicht schließen, daß er nicht existiert. Wenn man nämlich annimmt, daß von den schätzungsweise 500—800 analysierten Kernen so wie in anderen Fällen (vgl. TSCHERMAK-WOESS und HASITSCHKA, S. 591) nur 1% sich in Endomitose befand und von diesen 5—8 Kernen einige wegen der oben erwähnten Fixierungs labilität nicht ideal erhalten waren, so ist es leicht verständlich, daß sich der Strukturwechsel der Beobachtung entzog. Er müßte sich vor allem wohl in einer Auflockerung im sonst kompakten proximalen Heterochromatin zeigen.

Weiter ist vielleicht folgendes erwähnenswert. Das Chalazahaustorium und wahrscheinlich ebenso das Mikropylarhaustorium übt seine Funktion — die offenbar in der Nahrungszufuhr zum eigentlichen Endosperm besteht (vgl. SCHNARF, S. 362 ff., SCHMID, S. 280) — aus, während es endomitotisch heranwächst; bald nach Beendigung der Polyploidisierung beginnt es zu schrumpfen und seine Kerne degenerieren. — Das eigentliche Endosperm bleibt bis zu diesem Zeitpunkt und wahrscheinlich auch nachher triploid.

Zum Schluß möge noch über einen stichprobenartigen Versuch berichtet werden, der nicht zu positiven Resultaten führte. Zum Verständnis desselben muß allerdings etwas weiter ausgeholt werden. Bekanntlich gibt es an den Speicheldrüsenchromosomen vieler Dipteren neben den Nukleolen noch andere diesen ähnliche, aber nicht mit ihnen identische Gebilde: die Balbianringe. In ihnen spalten sich, wie BAUER und BEERMANN, dann eingehend BEERMANN bei *Chironomus tentans* feststellten, die Riesenchromosomen in gröbere, feinere und peripher feinste Teilbündel bzw. Fibrillen auf; sie stellen so wie die SAT-Zonen (die im übrigen nach Untersuchungen von MECHELKE an einer anderen Diptere im wesentlichen den gleichen Bau haben) Orte besonderer Stoffwechseltätigkeit dar, was BEERMANN durch Kältebehandlung nachweisen konnte. Werden nämlich die für 1 Std bei 5°C gehaltenen Larven in Wasser von Zimmertemperatur zurückgebracht, so setzt allmählich in den Balbianringen eine Ansammlung von Tröpfchen ein; nach der Deutung des Autors ist dies mit einer rascheren Wiederaufnahme der Produktion und einem verspäteten Beginn des Abtransportes der an den Balbianringen gebildeten Substanzen zu erklären. Weiter treten die Balbianringe gewebespezifisch und gebunden an bestimmte Abschnitte der Individualentwicklung auf. Da es bei *Rhinanthus* im Chalazahaustorium zu einer gewebespezifischen Vermehrung der nukleolenkondensierenden Zonen kommt, wurde untersucht, ob Kälteeinwirkung auch in diesem Fall einen Einfluß ausübt (man könnte sich beispielsweise vorstellen, daß die Nukleolen an den „angestammten“ SAT-, Riesenchromosomen“ erhalten bleiben und an den zusätzlichen rückgebildet werden). Es zeigten sich jedoch bei 12—26stündiger Behandlung (5°C, kein Licht) keine Veränderungen an den Kernen; längere Kälteeinwirkung führte zu Welkeerscheinungen an den Pflanzen.

Diskussion

Zu den für Pflanzen relativ hohen Graden von Endopolyploidie im Chalaza- und Mikropylarhaustorium von *Rhinanthus* (ersteres mit 192-

und 384-Ploidie, letzteres vermutlich etwas niedriger polyploid) gibt es bereits Parallelen. Bei *Pedicularis palustris* werden nämlich nach STEFFEN (1955) die 4 Kerne des Mikropylarhaustoriums schätzungsweise 192- bis 384-ploid, und zwar durch echte Endomitosen im Sinne von GEITLER (zuletzt 1953) und TSCHERMAK-WOESS und HASITSCHKA, wie sie für Angiospermen charakteristisch sind¹. Weiter hält GRAFL (1940) das Endospermhaustorium von *Arum maculatum* für besonders hoch polyploid. Auch für die Endospermhaustorien von *Veronica arvensis* und *V. teucrium* gibt STEFFEN (1954) Polyploidie an, doch dürfte — soweit man der kurzen Mitteilung entnehmen kann, — in diesem Fall Polyploidie infolge Bildung von Restitutionskernen und nicht infolge von Endomitosen in dem hier verwendeten Sinn vorliegen. Höchstwahrscheinlich ist aber in den haustoriellen Bildungen des Endosperms endomitotische Polyploidisierung sehr weit verbreitet; die Abbildungen und die nach jetzigen Begriffen allerdings nicht ausreichende Beschreibung der Kernstrukturen in den Handbüchern der Embryologie von SCHNARF und MAHESHWARI zusammen mit den in den letzten Jahren gewonnenen Daten über die endomitotische Polyploidisierung im allgemeinen legen diese Vermutung jedenfalls sehr nahe, zumal auch von anderen Haustorialzellen im Bereich des Embryosackes, nämlich den Suspensorhaustorien von *Lupinus*, *Capsella* und *Gagea* Endopolyploidie bekannt ist (GEITLER 1941, 1948). Zellen bzw. Kerne, die mit der Stoffzufuhr zum Embryosack zu tun haben oder die — vorsichtiger ausgedrückt — an den Orten liegen, die der Nahrungsstrom passiert, neigen, wie man der embryologischen Literatur entnehmen kann, offenbar überhaupt stark zur Hypertrophie, und diese beruht entweder auf einer intensiven Endomitotetätigkeit oder auf der Verschmelzung von (Tochter- oder „Enkel“-)Kernen während der Mitose. Sicher im Zuge von Endomitosen werden polyploid: die hypertrophierten Antipoden von *Papaver* (HASITSCHKA 1956), *Aconitum* (TSCHERMAK-WOESS 1956b), *Eranthis* (HASITSCHKA unveröffentlicht) und *Clivia* (TSCHERMAK-WOESS, im Druck), und auf dieselbe Weise entstehen höchstwahrscheinlich auch die Riesensynergiden und die Riesenkerne des Basalapparates (= chalazaler Teil des im übrigen nicht gegliederten Endosperms) von *Allium ursinum* (GEITLER 1955, HASITSCHKA-JENSCHKE 1957); Spindel- und Kernverschmelzungen während zusätzlicher Mitosen führen zur Polyploidie der Antipoden von *Caltha palustris* (GRAFL 1941). Auch für das eigentliche, als Nährgewebe fungierende

¹ Zusatz bei der Korrektur: Übrigens bildet STEFFEN [Planta 47, 636 (1956)] auch Kerne aus diesen Haustorien mit bandförmigen Strukturen ab. Diese stellen offenbar Übergangsbildungen zwischen den gewöhnlichen Endochromozentren und „Riesenchromosomen“ dar, wie sie in ähnlicher Weise bei *Aconitum* (TSCHERMAK-WOESS 1956b) und *Clivia* (TSCHERMAK-WOESS im Druck) vorkommen.

Endosperm ist Endopolyploidie bekannt, nämlich bei *Zea mays* (DUNCAN und ROSS, PUNNETT) und der oben schon in anderem Zusammenhang erwähnten *Pedicularis palustris* (STEFFEN 1955). Die Polyploidiegrade liegen aber hier wohl im allgemeinen niedriger als bei den Endospermhaustorien, hypertrophierten Antipoden und analogen Bildungen.

Die Kerne des Chalazahaustoriums (und des Mikropylarhaustoriums, soweit diese untersucht wurden) besitzen durchgehend die gleiche Struktur: sie enthalten „Riesenchromosomen“. Diese Einheitlichkeit ist sehr auffallend, weil bei *Papaver* (HASITSCHKA 1956) und *Aconitum* (TSCHERMAK-WOESS 1956b) „Riesenchromosomen“ nur sehr sporadisch auftreten und verschiedene andere Strukturen in den endopolyploiden Antipodenkernen vorherrschen. Worauf dieser Unterschied — die Einheitlichkeit auf der einen Seite und die Vielfalt auf der anderen — beruht, ist vorderhand völlig rätselhaft. Ein Merkmal, das vielleicht einen gewissen Einfluß auf das Zustandekommen von „Riesenchromosomen“ ausüben könnte, besteht darin, daß bei *Rhinanthus* viel, dagegen bei *Papaver* und *Aconitum* relativ wenig Heterochromatin vorhanden ist. Heterochromatin fördert jedenfalls — allerdings nach Species, Gewebe und Entwicklungszustand verschieden (vgl. zuletzt SCHLICHTINGER, CZEKA) — das Zusammenbleiben der endomitotischen Tochterchromosomen. Dazu kommen aber sicher noch andere Faktoren, die auf die Streckung und enge Bündelung der Tochterchromosomen wirken, und zwar so wirken, daß „Riesenchromosomen“ gebildet werden. Diese Faktoren scheinen zum Teil gewebe- oder organspezifisch zu sein, denn es ist bei Pflanzen schon in vielen Geweben und Organen Endopolyploidie festgestellt worden, „Riesenchromosomen“ fanden sich jedoch bisher nur im Bereich des Embryosackes (oder zumindest nur im Bereich der Blüte, wenn man die flüchtigeren Angaben über „Riesenchromosomen“-ähnliche Bildungen in den Antherenhaaren von *Bryonia* und in der Integumentepidermis von *Melandrium* mit einrechnet — vgl. im einzelnen TSCHERMAK-WOESS 1956, S. 129 und die dort zitierten Publikationen). Diese Abhängigkeit der Kernstruktur und im besonderen der „Riesenchromosomen“-Struktur ist aber keineswegs eine Besonderheit pflanzlicher Objekte, denn auch bei den Dipteren enthalten die endopolyploiden Kerne nur mancher Organe bzw. Gewebe Riesenchromosomen, während in anderen die hochendopolyploiden Kerne „retikuläre“ Struktur besitzen. Wie WHITE nachwies, kann dies sogar zwischen bestimmten Abschnitten einer Speicheldrüse wechseln. — An dem nicht einheitlichen Verhalten bei *Papaver* und *Aconitum*, dürften schließlich noch äußere Faktoren beteiligt sein (vgl. HASITSCHKA 1956, S. 110).

Daß im Bereich des Embryosackes besondere Verhältnisse herrschen, die sich auf den Bau der Kerne auswirken, auch wenn nicht Endopoly-

ploidie vorliegt, geht auch aus Untersuchungen von GEITLER (1948) an *Gagea* hervor. Während die Kerne in anderen Geweben einen Bau etwa nach dem Muster von *Allium* haben, also in einer gleichmäßigen euchromatischen Grundstruktur mehr minder kleine Schollen von Heterochromatin enthalten, ist die Beschaffenheit des Chromatins im Endosperm schmierig; in fixierten Kernen bildet das Euchromatin (artifizielle?) fädige Gerinnsel und das Heterochromatin ist zu großen, vakuolisierten und in Zipfel auslaufenden Chromozentren vereinigt, die zum Teil die Nukleolen überziehen. Ein wieder andersartiger aber gleichfalls vom Normalen abweichender Bau zeigt sich in dem vermutlich endopolyploiden Kern des Suspensorhaustoriums von *Gagea*.

Sehr auffallend und offenbar ebenfalls für das Chalazahaustorium spezifisch (wie sich das Mikropylarhaustorium in dieser Hinsicht verhält, ist nicht bekannt) sind die Beziehungen zwischen „Riesenchromosomen“ und Nukleolen. Statt 9 SAT-Chromosomen wie im eigentlichen triploiden Endosperm stehen bis zu 17 „Riesenchromosomen“ mit den meist gleichfalls an Zahl vermehrten Nukleolen in Verbindung. Daß auch andere als die SAT-Chromosomen Nukleolarsubstanz produzieren und sie eventuell auch kondensieren können, ist eine bekannte Tatsache, die sich unter anderem aus dem Umstand erkennen läßt, daß Karyomeren ohne SAT-Chromosomen Nukleolen ausbilden (z. B. GOTTSCHEALK). Bei *Rhinanthus* gewinnt man den Eindruck, als ob alle „Riesenchromosomen“ an ihren Endteilen aus kompaktem Heterochromatin Nukleolarsubstanz produzieren würden, wobei eine größere, nicht genau festgelegte Zahl von ihnen auch Nukleolarsubstanz kondensieren kann. Ob sich im Vorkommen zusätzlicher Nukleolen eine gewisse Analogie zu den Speicheldrüsenkernen der Dipteren zeigt, für die mehrfach Nebennukleolen beschrieben worden sind (z. B. BAUER 1936), läßt sich vorderhand nicht abschätzen, da die Kenntnis der Nebennukleolen bei Dipteren noch unzureichend ist. Während man früher Nebennukleolen und Balbianiringe meist gleichsetzte, scheidet BEERMANN in seinen gründlichen Studien zwischen Nukleolen und Balbianiringen, ohne von Nebennukleolen zu sprechen.

Als wesentliche Unterschiede zwischen pflanzlichen und tierischen „Riesenchromosomen“ wurden gelegentlich der Besprechung der Verhältnisse bei *Papaver* und *Aconitum* angeführt (TSCHERMAK-WOESS 1956b), daß bei den pflanzlichen 1. keine ausgeprägten Scheiben vorhanden sind (bei *Aconitum variegatum* sich aber immerhin eine Andeutung eines Scheibenbaues feststellen läßt) und 2. die Streckung der pflanzlichen Riesenchromosomen hinter der der tierischen bedeutend zurückbleibt. Ein Scheibenbau tritt bei *Rhinanthus* nicht einmal andeutungsweise auf. Dagegen nimmt diese Art in bezug auf die Streckung eine Mittelstellung zwischen *Papaver* und *Aconitum* einerseits und den

Dipteren andererseits ein. Die Verlängerung nimmt nämlich bei *Rhinanthus* so wie bei den Dipteren und höchstwahrscheinlich ganz allgemein mit steigendem Polyploidiegrad zu; bezogen auf ein *Prometaphase*-chromosom beträgt sie bei 96-Ploidie ungefähr das 17fache, in höher polyploiden Kernen höchst wahrscheinlich noch mehr. Damit geht sie über den Streckungsgrad, den man im allgemeinen den Pachytän-chrosomen zuschreibt (10fach bezogen auf die *Metaphase*chromosomen) schon deutlich hinaus. Die in der Einleitung ausführlicher dargestellte Hypothese, daß der Unterschied in der Streckung zwischen tierischen und pflanzlichen Riesenchromosomen nur gradueller Natur ist und die stärkere Verlängerung der tierischen mit den weitaus höheren Polyploidiegraden zusammenhängt, läßt sich jedenfalls durch das Verhalten von *Rhinanthus* stützen¹.

Streckung und enge Paarung der endomitotischen Tochterchromosomen scheinen übrigens in gewissem Maß miteinander verknüpft zu sein. Diesen Eindruck gewinnt man bei *Rhinanthus* bei einem Vergleich junger, wenig gestreckter „Riesenchromosomen“ mit älteren, stärker gestreckten; bei *Papaver* (HASITSCHKA 1956) fügen sich *nur* die gestreckten, Chromomerenbau zeigenden endomitotischen Tochterchromosomen zu „Riesenchromosomen“ zusammen, während die deutlich spiralisierten Chromosomen anderer Antipoden isoliert liegen oder in Endochromozentren vereinigt sind, von den die Schenkel radial ausstrahlen. Auch in den endopolyploiden Synergiden und im Basalapparat des Endosperms von *Allium ursinum* bleiben die endomitotischen Tochterchromosomen zwar regelmäßig zu Bündeln vereinigt, diese sind aber lockerer als die „Riesenchromosomen“ — vielleicht deshalb, weil die Einzelelemente nach Art von prophasischen Chromosomen spiralisiert sind (GETLER 1955, HASITSCHKA-JENSCHKE 1957).

Während für *Secale* (nach LIMA-DE-FARIA 1952) und *Agapanthus* (GETLER 1933, LIMA-DE-FARIA 1954) — und wahrscheinlich gilt für viele andere Arten das gleiche — die Pachytänanalyse ergibt, daß ein kontinuierliches Gefälle der Chromasie, d.h. ein Gefälle in der Chromomerengröße, von den centromerennahen heterochromatischen Teilen zu den euchromatischen Enden besteht², zeigt sich an den „Riesenchromosomen“ von *Rhinanthus* ein andersartiger Bau. Zwischen dem kompakten proximalen Heterochromatin und dem lockeren Heterochromatin im Mittelteil schiebt sich zwar eine kurze Übergangszone ein;

¹ Die Speicheldrüsenchromosomen von *Chironomus* schätzen BEERMANN (1952) und BESSERER (1956) auf Grund verschiedener Untersuchungsmethoden auf rund 16000-ploid.

² Die bei *Secale* vorkommenden und auch sonst verbreiteten heterochromatischen „knobs“ an den Chromosomenenden sind in diesem Zusammenhang nicht berücksichtigt.

der Mittelteil ist dagegen einheitlich und der euchromatische Endteil schließt unvermittelt an. Die Chromomerengröße nimmt also nicht *allmählich*, sondern sprunghaft mit der Distanz vom Centromer ab.

Zusammenfassung

Die hoch endopolyploiden Kerne der Endospermhaustorien (Mikropylar- und Chalazahaustorium, eingehendere Untersuchung an letzterem) von *Rhinanthus* enthalten ausnahmslos „Riesenchromosomen“. Diese stellen so wie die tierischen Riesenchromosomen Bündel aus den endomitotisch vermehrten, beisammen bleibenden und gestreckten Tochterchromosomen eines Ausgangschromosoms dar. Sie treten daher in den haustoriellen Bildungen des Endosperms in triploider Anzahl auf.

Der Bau der „Riesenchromosomen“ entspricht dem der mitotischen Chromosomen. So wie diese setzen sie sich zum Großteil aus Heterochromatin zusammen und trägt jedes von ihnen einen kurzen euchromatischen Endteil. Darüber hinaus zeigt sich an den „Riesenchromosomen“ eine Differenzierung zwischen dem offenbar proximalen kompakten Heterochromatin und dem lockeren, chromomeren gegliederten, das einen längeren Abschnitt einnimmt. An dieses schließt die euchromatische Region an.

Es besteht also in den langen Schenkeln der stark ungleichschenkeligen Chromosomen ein Gefälle der Chromasie, aber nur zwischen kompaktem und lockerem Heterochromatin ein allmählicher Übergang.

Im Unterschied zu den tierischen Riesenchromosomen besitzen die „Riesenchromosomen“ von *Rhinanthus* keinen Scheibenbau.

Der Streckungsgrad der pflanzlichen Riesenchromosomen nimmt so wie der der tierischen mit steigender Polyploidie zu. Die Länge eines „Riesenchromosoms“ beträgt in einem 96-ploiden Kern das 17fache der Länge eines noch nicht maximal kontrahierten Prometaphasechromosoms, in höher polyploiden Kernen offenbar noch mehr.

Während der frühen Entwicklung der pflanzlichen Riesenchromosomen kommt es zu einer Abrollung der im Heterochromatin zunächst erhalten gebliebenen Restspiralen; dann richten sich die ursprünglich in steileren Windungen umeinandergelegten Teilbündel mehr geradlinig aus und schließlich dürfte so wie bei den Dipteren eine Streckung submikroskopischer Spiralen vor sich gehen.

Aus der statistischen Auswertung von Volumenmessungen ergibt sich: es erfolgt rhythmisches Kernwachstum und die beiden Kerne des Mikropylarhaustoriums gehören der gleichen oder benachbarten Polyploidiestufen an; sie werden 192- bis 384-ploid. Die 4 Kerne des Mikropylarhaustoriums bleiben vermutlich etwas niedriger polyploid.

In den jungen „Riesenchromosomen“ einzelner 12- und 24-ploider Kerne lassen sich 4 bzw. 8 Längselemente auszählen; letztere stellen also Chromosomen und nicht etwa Sammelbildungen dar.

Im Vergleich zur Anzahl der SAT-Chromosomen im eigentlichen Endosperm, die 9 beträgt, ist die Zahl der Nukleolen-kondensierenden „Riesenchromosomen“ im Mikropylarhaustorium erhöht, indem sie bis 17 ansteigt; dabei, sowie bei dem Auftreten von „Riesenchromosomen“ überhaupt, handelt es sich offenbar um eine gewebespezifische Abwandlung des Kernbaues.

Literatur

- BAUER, H.: Beiträge zur vergleichenden Morphologie der Speicheldrüsen-chromosomen. Zool. Jb. 56, 239—276 (1936). — BAUER, H., u. W. BEERMANN: Die Polytanie der Riesenchromosomen. Chromosoma 4, 630—648 (1952). — BEERMANN, W.: Chromomerenkonstanz und spezifische Modifikationen der Chromosomenstruktur in der Entwicklung und Organdifferenzierung von *Chironomus tentans*. Chromosoma 5, 139—198 (1952). — BESSERER, SELMA: Das Wachstum der Speicheldrüsen- und Epidermiskerne in der Larvenentwicklung von *Chironomus*. Biol. Zbl. 75, 205—226 (1956). — CZEKA, G.: Strukturveränderungen endopolyploider Ruhekerne im Zusammenhang mit wechselnder Bündelung der Tochterchromosomen und karyologisch-anatomische Untersuchungen an Sukkulanten. Österr. bot. Z. 103, 536—566 (1956). — DEUFEL, J.: Zytologische Untersuchungen an sezernierenden Zellen. Naturwiss. 41, 41—42 (1954). — DOLEŽAL, RUTH, u. ELISABETH TSCHERMAK-WOESS: Verhalten von Eu- und Heterochromatin und interphasisches Kernwachstum bei *Rhoeo discolor*; Vergleich von Mitose und Endomitose. Österr. bot. Z. 102, 158—185 (1955). — DUNCAN, R., and J. G. ROSS: The nucleus in differentiation and development. III. Nuclei of maize endosperm. J. Hered. 41, 259—268 (1950). — GEITLER, L.: Das Verhalten der Chromozentren von *Agapanthus* während der Meiose. Österr. bot. Z. 82, 277—282 (1933). — Das Wachstum des Zellkerns in tierischen und pflanzlichen Geweben. Erg. Biol. 18, 1—54 (1941). — Notizen zur endomitotischen Polyploidisierung in Trichocyten und Elaiosomen sowie über Kernstrukturen bei *Gagea lutea*. Chromosoma 3, 271—281 (1948). — Endomitose und endomitotische Polyploidisierung. In Protoplasmatologia, 1. Aufl., Bd. VI C. Wien: Springer 1953. — Riesenerne im Endosperm von *Allium ursinum*. Österr. bot. Z. 102, 460—475 (1955). — GOTTSCHALK, W.: Die Nucleolenbildung beim Fehlen von Satelliten-Chromosomen. Naturwiss. 42, 130—131 (1955). — GRAFF, INA: Cytologische Untersuchungen an *Sauromatum guttatum*. Österr. bot. Z. 89, 81—118 (1940). — Über das Wachstum der Antipodenkerne von *Callitha palustris*. Chromosoma 2, 1—11 (1941). — HASITSCHKA, GERTRUDE: Bildung von Chromosomenbündeln nach Art der Speicheldrüsenchromosomen, spiralisierte Ruhekerne-chromosomen und andere Struktureigentümlichkeiten in den endopolyploiden Riesenerne der Antipoden von *Papaver rhoeas*. Chromosoma 8, 87—113 (1956). — HASITSCHKA-JENSCHKE, GERTRUDE: Die Entwicklung der Samenanlage von *Allium ursinum* mit besonderer Berücksichtigung der endopolyploiden Kerne in Synergiden und Antipoden. Österr. bot. Z. 104, 1—24 (1957). — LIMA-DE-FARIA, A.: Chromomere analysis of the chromosome complement of rye. Chromosoma 5, 1—68 (1952). — Chromosome gradient and chromosome field in *Agapanthus*. Chromosoma 6, 330—370 (1954). — MAHESHWARI, P.: An introduction to the embryology of angiosperms. New York-Toronto-London: McGraw-Hill Book Company 1950. — MECHELKE, F.: Reversible Strukturmodifikationen der Speichel-Chromosoma. Bd. 8

drüsenchromosomen von *Acricotopus lucidus*. Chromosoma 5, 511—543 (1953). — PUNNETT, H. H.: Cytological evidence of hexaploid cells in maize endosperm. J. Hered. 44, 257—259 (1953). — SCHLICHTINGER, F.: Karyologische Untersuchungen an endopolyploiden Chromozentrenkernen von *Gibbaeum heathii* im Zusammenhang mit der Differenzierung. Österr. bot. Z. 103, 485—528 (1956). — SCHMID, E.: Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der *Scrophulariaceae*. Beih. bot. Zbl. 20, 175—299 (1906). — SCHNARF, K.: Embryologie der Angiospermen. In Handbuch der Pflanzenanatomie, Bd. X/2. Berlin: Gebrüder Borntraeger 1929. — STEFFEN, K.: Cytological observations on endosperm haustories. VIII. Rapports et communications, 250. Congr. Internat. de botanique Paris 1954. — Kern- und Nucleolenwachstum bei endomitotischer Polyploidisierung. Planta (Berl.) 45, 379—394 (1955). — TSCHERMAK-WOESS, ELISABETH: Über die Phasen der Endomitose, Herkunft und Verhalten der „nuclealen Körper“ und Beobachtungen zur karyologischen Anatomie von *Sauromatum guttatum*. Planta (Berl.) 44, 509—531 (1954). — Karyologische Pflanzenanatomie. Protoplasma 46, 798—834 (1956a). — Notizen über die Riesenkerne und „Riesenchromosomen“ von *Aconitum*. Chromosoma 8, 114—134 (1956b). — Über Kernstrukturen in den endopolyploiden Antipoden von *Olivia miniata*. Chromosoma 1957. (Im Druck.) — TSCHERMAK-WOESS, E., u. RHUT DOLEŽAL: Der Formwechsel des Heterochromatins im Verlauf der Mitose von *Vicia faba*. Österr. bot. Z. 103, 457—468 (1956). — TSCHERMAK-WOESS, E., u. GERTRUDE HASITSCHKA: Veränderungen der Kernstruktur während der Endomitose, rhythmisches Kernwachstum und verschiedenes Heterochromatin bei Angiospermen. Chromosoma 5, 574—614 (1953). — WHITE, M. J. D.: The cytology of the *Cecidomyiidae* (Diptera). J. of Morph. 82, 53—80 (1948).

Dr. ELISABETH TSCHERMAK-WOESS,
Botanisches Institut der Universität Wien

Aus dem Botanischen Institut der Universität Freiburg i. Br.

KONSTANZ UND VARIABILITÄT DER CHROMOSOMENZAHL
BEI EINIGEN ANTHURIEN UNTER BESONDERER BERÜCK-
SICHTIGUNG DER B-CHROMOSOMEN*

Von

PETER PFITZER

Mit 12 Textabbildungen

(Eingegangen am 27. Oktober 1956)

| Inhalt | Seite |
|---|-------|
| A. Einleitung | 545 |
| B. Material und Methode | 546 |
| C. Empirischer Teil | 546 |
| I. Morphologie der B-Chromosomen | 546 |
| 1. Struktur | 546 |
| 2. Längenverhältnisse | 547 |
| II. Verhalten der B-Chromosomen in der Meiosis | 548 |
| 1. Normalablauf | 548 |
| 2. Störungen | 550 |
| III. Entwicklung der Samenanlagen | 552 |
| IV. Kreuzungsergebnisse | 553 |
| 1. Inkonstanz der Chromosomenzahlen im somatischen Gewebe | 553 |
| a) Triploide S. 553. — b) Diploide S. 556. — Keimpflanzen S. 556. | |
| 1 Jahr alte Pflanzen S. 557. — Blühfähige Pflanzen S. 557. | |
| 2. Weitergabe der B-Chromosomen bei sexueller Fortpflanzung | 557 |
| 3. Auswirkungen der B-Chromosomen | 563 |
| Samenreife S. 563. — Konkurrenzaussaaten S. 564. — Phäno- | |
| typische Auswirkungen S. 565. | |
| D. Diskussion | 565 |
| 1. Inkonstanz der Chromosomenzahlen im somatischen Gewebe von | |
| <i>Anthurien</i> | 565 |
| 2. B-Chromosomen der <i>Anthurien</i> | 568 |
| Zusammenfassung | 570 |
| Literatur | 571 |

A. Einleitung

Cytologische Untersuchungen an einer größeren Anzahl Araceen (PFITZER 1957) hatten für die Pflanzen dreier Arten der umfangreichen Gattung *Anthurium* individuell verschiedene Chromosomenzahlen ergeben. Da es sich zeigte, daß in allen Fällen die überzähligen Chromosomen homolog sind, lag die Vermutung nahe, es handle sich bei diesen, für die Normalentwicklung der Pflanzen nicht erforderlichen Chromosomen um sog. akzessorische oder B-Chromosomen. Ihre Struktur, ihr

* Unter Verwertung des zweiten Teils einer Dissertation der Naturwissenschaftlich-mathematischen Fakultät der Universität Freiburg i. Br.

Verhalten in der Meiosis und ihre Weitergabe bei sexueller Fortpflanzung werden in der vorliegenden Arbeit eingehender untersucht. Das begrenzte Auftreten der B-Chromosomen in nur 3 der 17 bearbeiteten Arten besagt nichts über ihr tatsächliches Vorkommen in anderen Anthurien im natürlichen Verbreitungsgebiet der Gattung in Südamerika. Es ist einer der Nachteile des aus wenigen Importen hervorgegangenen Gewächshausmaterials der botanischen Gärten, daß es, infolge seines geringen Umfangs, hierüber keine Aussage erlaubt. Ebenso läßt sich vorerst nicht entscheiden, wieweit andere, ebenfalls abweichende Angaben der Chromosomenzahlen durch B-Chromosomen verursacht wurden (MOOKERJEA 1955).

Neben Aufschlüssen über die Natur der B-Chromosomen ergaben die Untersuchungen noch Anhaltspunkte für das auffallende Phänomen der Inkonstanz der Chromosomenzahl in den Wurzelspitzen ein und derselben Pflanze. Das verschieden häufige Auftreten von Zellen mit abweichender Chromosomenzahl in den Wurzelspitzen triploider und diploider Pflanzen kennzeichnet zumindest die starke Zunahme der Störung als eine Folge des bei Triploiden gestörten Gleichgewichtes der Genome.

B. Material und Methode

Ausführliche technische Angaben finden sich in der vorausgegangenen Untersuchung (PFITZER 1957). Tabelle 1 zeigt die Chromosomenzahlen von insgesamt 11 zur Verfügung stehenden blühfähigen Pflanzen der 3 Arten *A. magnificum*, *A. crystallinum* und *forgetii*. Soweit möglich wurden zwischen ihnen Bestäubungen vorgenommen. Selbstung der Pflanzen war möglich, sofern 2 Infloreszenzen einer Pflanze im richtigen Stadium gleichzeitig zur Verfügung standen. Die erhaltenen Samen wurden sofort nach der Ernte abgewaschen und in Petrischalen auf feuchtem Filtrierpapier ausgelegt. Die Fixierung der Wurzelspitzen erfolgte bei einer Länge von 5–20 mm.

Tabelle 1. Chromosomenzahlen der blühfähigen Pflanzen von *Anthurium magnificum* LIND., *A. crystallinum* LIND. et ANDRÉ und *A. forgetii* N.E.Br.

| n | 15 | 15 + 1B | 15 + 2B | Gesamtanzahl blühfähiger Pflanzen |
|--------------------------|----|---------|---------|---|
| <i>A. magnificum</i> | 1 | 2 | 1 | 4 |
| <i>A. crystallinum</i> | 1 | — | 4 | 5 |
| <i>A. forgetii</i> . . . | — | 2 | — | 2 |

C. Empirischer Teil

I. Morphologie der B-Chromosomen

1. Struktur

Die hier untersuchten B-Chromosomen der *Anthurien* unterscheiden sich in Farbe- oder Spiralisationsverhalten nicht grundsätzlich von den übrigen Chromosomen. Da in den Ruhekernen Chromozentren nicht

erkennbar sind, gehören sie in die Gruppe der mehr oder weniger euchromatischen akzessorischen Chromosomen, wie sie von Paris (DARLINGTON 1941), *Secale*, *Centaurea*, *Poa* (MÜNTZING 1954) *Polycelis* (MELANDER 1950) u. a. bekannt sind. Sehr eindeutig sind die B-Chromosomen der Anthurien in den Mitosen durch zwei helle Streifen charakterisiert, die das Chromosom in drei gleiche Teile unterteilen. Abb. 1 zeigt 2 B-Chromosomen einer *Anthurium magnificum*-Pflanze, Abb. 2 ein etwas gezerztes B-Chromosom der *A. forgetii*. Ein B-Chromosom nach 4-stündiger Vorbehandlung mit 0,002 molarer Oxinlösung vor dem Fixieren gibt Abb. 3 wieder; auch hier sind die beiden hellen Streifen noch gleich deutlich zu erkennen, obgleich nach einer derartigen Vorbehandlung die sekundären Einschnürungen der anderen Chromosomen im allgemeinen nicht mehr zu sehen sind. Welchem der beiden hellen Streifen, oder ob eventuell beiden die Funktion des Kinetochors zukommt, ist



Abb. 1

Abb. 2

Abb. 3

Abb. 1—3. Abb. 1. *Anthurium magnificum*. WS. 2 B-Chromosomen. 2000 \times . Abb. 2. *Anthurium forgetii*. WS. 1 B-Chromosom. 2000 \times . Abb. 3. *Anthurium magnificum*. WS. 1 B-Chromosom nach 4 Std 0,002 mol Oxin-Einwirkung. 2000 \times

schwer zu entscheiden, da bei der Kürze der Chromosomen in den Anaphasen keine eindeutige Abwinkelung erkennbar ist. Ob es sich bei den einzelnen Abschnitten um eine Wiederholung von drei homologen Stücken handelt, ist vorerst nicht entscheidbar, da eine Strukturanalyse während der Meiosis technisch nicht möglich ist. Das sehr typische und einheitliche Aussehen der B-Chromosomen der 3 *Anthurium*-Arten während der Mitosen berechtigt zu der Annahme, daß es sich in allen Fällen um dasselbe Chromosom handelt.

2. Längenverhältnisse

Eine Analyse der Mitosen zeigt unter den 15 Chromosomenpaaren der Anthurien zwei auffallend lange, submedian inserierte, die sich nur durch eine geringfügige Verschiedenheit in der Lage ihrer Insertionsstellen unterscheiden; am kleinsten ist das B-Chromosom, dessen Länge etwa der des SAT-Chromosoms ohne den Satelliten entspricht, es läßt sich von diesem jedoch auf Grund seiner Struktur unterscheiden.

Tabelle 2 gibt die Größenverhältnisse der Chromosomen während der mitotischen Metaphase der verschiedenen Anthurien wieder. Die Mittelwerte zeigen, daß das B-Chromosom, ebenso wie das größte

Tabelle 2. Größe der Chromosomen im Plasma verschiedener *Anthurium*-Arten vor und nach 4-stündiger Behandlung mit 0,002 mol Oxin

| Plasma | Längstes Chromosom | | | B-Chromosom | | |
|---|--------------------|------------------|----------------------|-------------|------------------|----------------------|
| | ohne Oxin | Anzahl Messungen | mit Oxin | ohne Oxin | Anzahl Messungen | mit Oxin |
| <i>A. magnificum</i> | 9,2 μ | 87 | } 6,6 μ (28%) | 3,9 μ | 86 | } 3,0 μ (24%) |
| <i>A. crystallinum</i> | 9,2 μ | 33 | | 3,9 μ | 34 | |
| <i>A. forgetii</i> | 8,6 μ | 57 | 6,9 μ (20%) | 3,2 μ | 56 | 2,9 μ (8%) |
| <i>A. magnificum</i> \times <i>forgetii</i> (30 \times 31) | 9,1 μ | 44 | | 3,8 μ | 44 | |
| <i>A. forgetii</i> \times <i>magnificum</i> (31 \times 31) | 8,3 μ | 14 | | 3,1 μ | 14 | |

Chromosom, im Plasma von *A. forgetii* etwas kürzer ist als im Plasma der beiden anderen Arten.

Die beiden letzten Zeilen der Tabelle geben zwei reziproke Kreuzungen von *A. magnificum* und *A. forgetii* wieder, wobei im ersten Fall das B-Chromosom allein aus *forgetii*-Pollen in *magnificum*-Plasma kam, während in der zweiten Kreuzung die Hälfte der gemessenen B-Chromosomen vom Vater (*A. magnificum*) und die Hälfte von der Mutterpflanze (*A. forgetii*) stammen. Die gefundenen Mittelwerte stimmen mit den für die Plasmen angegebenen Werten in den ersten Zeilen der Tabelle überein. Eine statistische Sicherung der Verschiedenheit war jedoch bei der geringen Anzahl der recht schwierigen Auswertungen nicht möglich.

Ferner zeigt Tabelle 2, daß eine verkürzende Wirkung des 8-Oxychinolins nur bei relativ langen Chromosomen eintritt. Während das B-Chromosom sich im Plasma von *A. magnificum* und *crystallinum* um etwa 20% verkürzt, ist die weitere Verkürzung im Plasma von *A. forgetii* recht gering (8%). Der Wirkung des Oxins ist also in der Spiralisationsmöglichkeit der Chromosomen eine Grenze gesetzt.

II. Verhalten der B-Chromosomen in der Meiosis

Da sich keine grundsätzlichen Unterschiede im meiotischen Verhalten der 3 Arten *A. magnificum*, *crystallinum* und *forgetii* fanden, können sie gemeinsam besprochen werden.

1. Normalablauf

Bei Vorhandensein eines B-Chromosoms. Das früheste, gut auswertbare Stadium der meiotischen Prophase stellt die späte Diakinese dar, da alle früheren Stadien infolge ihrer Fixierungslabilität schwer auswertbar sind. Bei Vorhandensein nur eines B-Chromosoms ist dieses in der späten Diakinese deutlich als Univalent erkennbar. In der Metaphase I erscheint es im Gegensatz zu den 15 Bivalenten kugel-

förmig und wandert, wie Seitenansichten zeigen, meist vor Beginn der eigentlichen Anaphase, ohne sich vorher zu teilen, an einen der beiden Pole (Abb. 4). Diese Bewegung erinnert an das Verhalten der Univalente bei *Aglonema simplex* (PFITZER 1957) und deutet ebenfalls darauf hin, daß während der frühen Metaphase I der Meiosis zwei zu den Polen gerichtete Strömungen vorhanden sind, ähnlich den von STICH (1954) für die Mitose nachgewiesenen. In 67 ausgezählten Zellen fanden sich im Stadium der späten Anaphase I einheitlich an einem Pol 15 und am anderen 16 (15:16) Chromosomen. Während des zweiten

Teilungsschrittes unterscheidet sich das Verhalten des B-nicht von dem der übrigen Chromosomen. In der ersten Pollenmitose treten Meta-

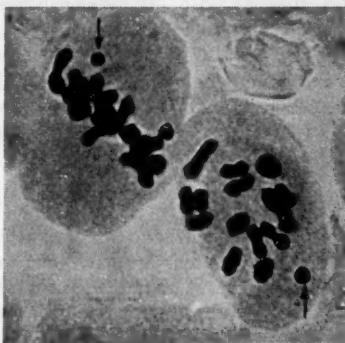


Abb. 4. *Anthurium magnificum*. PMZ.
 $n = 15 + 1B$. Metaphase I. 1000 \times

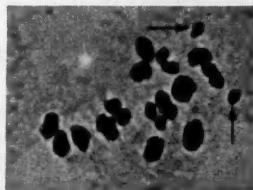


Abb. 5. *Anthurium forgetii*. PMZ.
Metaphase I. $n = 15 + 2B$ (\uparrow). 1000 \times

phasen mit 15 oder 16 Chromosomen auf. Anaphasen dieser Teilung wurden nicht untersucht, doch zeigen die weiter unten zu besprechenden Kreuzungsergebnisse, daß ein gerichtetes non-disjunction, wie es bei einer Reihe von Gramineen vorkommt (MÜNTZING 1954), bei *Anthurium* nicht vorliegt.

Bei Vorhandensein zweier B-Chromosomen. Im allgemeinen ist erkennbar, daß die beiden B-Chromosomen in den frühen Stadien der Meiosis gepaart sind, sich jedoch schon wieder in der späten Diakinese trennen. Bei vereinzelt während der frühen Diakinese festgestellten Trivalenten, die bei *A. crystallinum* auftreten, kann es sich um Verklebungen der schlecht fixierbaren Chromosomen handeln. Ein Quadri-valent von 2 B- und 2 A-Chromosomen konnte auf alle Fälle trotz ausgiebigen Suchens nicht gefunden werden, und dies müßte bei Homologie eines A- mit dem B-Chromosom gelegentlich auftreten. Vereinzelt sind die beiden B-Chromosomen auch in der frühen Metaphase I noch gepaart, trennen sich jedoch auch dann schon einige Zeit vor den übrigen Chromosomen. Abb. 5 zeigt diesen Vorgang für eine *A. forgetii*-Pflanze mit 2 B-Chromosomen (Palmengarten, Frankfurt).

Auszählungen der späten Anaphase I zeigen auch für 2 B-Chromosomen eine rein zufällige, von der vorhergehenden Bindung völlig unbeeinflusste Verteilung auf die beiden Pole. Wandern beide B-Chromosomen an denselben Pol, so bekommt der eine Kern 17, der andere 15 Chromosomen (17:15) (Abb. 6). Im Fall entgegengesetzter Richtung bekommen beide Kerne $15 + 1 B = 16$ Chromosomen (16:16). Der eine Fall (17:15) fand sich für *A. crystallinum* unter insgesamt 80 (100%) ausgewerteten Anaphasen 39mal (49%), der andere (16:16) 41 mal (51%). Daß beide Fälle gleich häufig auftreten, kann nur durch eine rein zufällige Verteilung der B-Chromosomen erklärt werden. Während des zweiten Teilungsschrittes verhalten sich die B-Chromosomen wiederum normal.

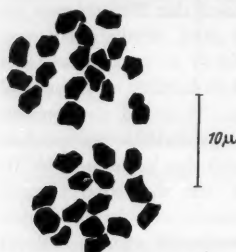


Abb. 6. *Anthurium crystallinum*.
PMZ. Anaphase I (15:17
Chromosomen). 1450 \times

2. Störungen

Erstaunlicherweise fanden sich trotz der recht einheitlichen Außenbedingungen der Gewächshauskultur nicht selten Antheren mit gestörtem Meiosisablauf. Da diese Störungen, die im wesentlichen auf eine Teilung von Univalenten während des ersten, und Nichttrennen der Chromatiden während des zweiten Teilungsschrittes zurückgehen, auch in Pflanzen ohne B-Chromosomen vorkommen, sind sie von diesen unabhängig. Gehäuft treten sie in der Spitzenregion der Blütenkolben und den etwas später reifenden beiden Antheren des inneren Staubblattkreises auf.

Gehäufte Bindungsausfall und damit Entstehung von Univalenten wurde nun von OEHLKERS und Schülern (OEHLKERS 1937, KISCH 1937) unter anderem als Folge ungleichmäßiger Wasserversorgung nachgewiesen. Da die Störungen bei *Anthurien* zu allen Jahreszeiten vorkommen, der Lichtfaktor somit kaum zur Erklärung herangezogen werden kann, und eine erschwerte Wasserversorgung der Infloreszenzspitzen und der inneren Staubblattkreise recht naheliegend erscheint, kann angenommen werden, daß dieses die Ursache der Störung ist.

Im zytologischen Bild treten bei den Störungen Univalente auf, die in der Äquatorialplatte zurückbleiben, sich jedoch während der späten Anaphase und beginnender Telophase I zu teilen vermögen. In vielen Fällen können sie wohl doch noch in die Tochterkerne gelangen. Zeitweilig ist die Trennung der Chromatiden dabei unvollständig und beide wandern gemeinsam zu einem Pol. Die Univalente können aber auch in der Äquatorialplatte zurückbleiben.

Ein gestörter Transport der Chromatiden an die beiden Pole läßt sich während des zweiten Teilungsschrittes beobachten (Abb. 7). Wie Auszählungen der zweiten Anaphase (Tabelle 3) ergaben, liegt hier eine

Nicht-Trennung der Chromatiden vor. Somit entstehen auch während des zweiten meiotischen Teilungsschrittes 2 Kerne mit ungleichen Chromosomenzahlen (Abb. 8).

In den beiden ersten Spalten der Tabelle 3 wird für eine Pflanze mit einem B-Chromosom gezeigt, daß Gonen mit 15 und 16 Chromosomen in annähernd gleicher Anzahl entstehen, wie dies aus dem Verlauf des normalen ersten Teilungsschrittes gefolgert werden muß. Die dritte und vierte Spalte mit einer 14:14 und 17:17-Verteilung der Chromatiden in der zweiten Anaphase muß auf Fehlverteilungen während des ersten Teilungsschrittes zurückgehen. Spalte 5 und 6 hingegen



Abb. 7. *Anthurium magnificum*. PMZ. Verteilungsstörung während des zweiten meiotischen Teilungsschrittes. 1000 ×

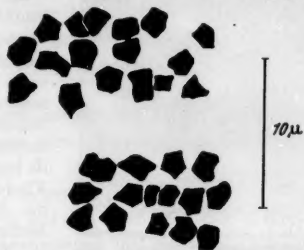


Abb. 8. *Anthurium magnificum* mit 1 B-Chromosom. Ungleiche Verteilung in der Anaphase II (15:17 Chromosomen). 2400 ×

zeigen mit den Zahlen 14:16 und 15:17 Beispiele einer durch Nicht-trennung der Spalthälften während der Anaphase II entstandenen Störung.

Wieweit diese Univalent-Teilung als eine Folge verfrühter Terminalisation der Chiasmen bzw. verzögerten Meiosisablaufs auch die B-Univalente zu erfassen

Tabelle 3. Chromosomenverteilung in der zweiten meiotischen Anaphase einer *Anthurium magnificum*-Pflanze mit einem B-Chromosom

| | Spaltung | | | | | | Gesamtanzahl ausgewerteter Anaphasen |
|--------|--------------|-------|---------------------------------|-------|---------------------------------|-------|--------------------------------------|
| | 15:15 | 16:16 | 14:14 | 17:17 | 14:16 | 15:17 | |
| Anzahl | 48 | 41 | 3 | 1 | 4 | 4 | 101 |
| | normal (88%) | | 1. Teilungsschritt gestört (4%) | | 2. Teilungsschritt gestört (8%) | | |

vermag, ist optisch nicht entscheidbar. Daß eine eventuelle Beeinträchtigung der gegen die Pole gerichteten Strömungen durch schlechte Wasserversorgung auch zu einem abweichenden Verhalten der B-Chromosomen führen könnte, ist jedoch nicht zu bezweifeln. Auf Störungen dieser Art dürften die stark schwankenden Prozentsätze fertilen Pollens ein und derselben Pflanze zurückgehen. Erstaunlich ist die Labilität des Meiosisablaufs bei Pflanzen, die, wie in diesem Fall, in sehr feuchten Warmhäusern scheinbar recht gleichmäßigen Außenbedingungen aus-

gesetzt sind. Eine Labilität, die für Pflanzen der tropischen Regenwälder mit ihren normalerweise sehr gleichmäßigen Bedingungen, jedoch auch für andere physiologische Vorgänge, wie z.B. die Blütenbildung, festgestellt wurde.

III. Entwicklung der Samenanlagen

Der an Quetschpräparaten untersuchte Meiosisablauf in den Samenanlagen entspricht weitgehend den Befunden an den Antheren. Auch hier erfolgt bei Vorhandensein zweier B-Chromosomen eine Trennung

vor den übrigen Bivalenten. Ob Univalent-Teilungen während des ersten Teilungsschrittes der Meiosis eine Rolle spielen, konnte nicht ermittelt werden.

Allgemeiner von Interesse sind die Größenverhältnisse der Nukleolen im Stadium 8-kerniger Embryosäcke. Gemessen wurden die Durchmesser der Nukleolen, die Berechnung ihres Volumens erfolgte auf Grund der Flächendurchmesser mit der Formel für das Kugelvolumen, da in 26 Probemessungen die Durchmesser in der Fläche und Tiefe gut übereinstimmten, somit die Nukleolen annähernd kugelförmige Gestalt besitzen.

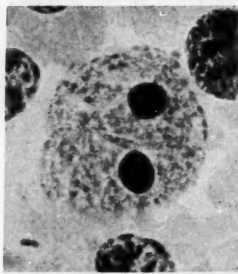


Abb. 9. *Anthurium magnificum*. Verschmelzende Polkerne des Embryosacks. 1000 \times

Jeder der haploiden Kerne besitzt, entsprechend seinem SAT-Chromosom,

nur einen Nucleolus. Vor Berührung der beiden Polkerne schwanken die Größen der 8 Nukleolen um den Mittelwert von $89 \mu^3$ (Tabelle 4), wobei 1—4 Nukleolen etwas größer als die übrigen sein können. Vom Zeitpunkt der Berührung an zeigen jedoch die Polkerne eine auffallende gleichmäßige Vergrößerung ihrer Nukleolen ($141 \mu^3$) (Abb. 9), während sich die der übrigen 6 Gametophytenkerne ebenso gleichmäßig verringern ($68 \mu^3$). Errechnet man in diesem Stadium ein durchschnittliches Nukleolenvolumen aus 2 Pol- und 6 weiteren Gametophytenkernen, so zeigt sich, daß die Gesamtmenge der Nukleolarsubstanz mit $86 \mu^3$ je Nucleolus unverändert geblieben ist. Es liegt hier also eine physiologische Differenzierung dergestalt vor, daß vom ersten Beginn ihrer Verschmelzung an die Polkerne die vorher geteilte Produktion der wichtigen Nukleolarsubstanz übernehmen.

Tabelle 4. Nukleolengrößen im Embryosack von *Anthurium magnificum*

| | | Nukleolen- durchmesser | Nukleolen- volumen | Anzahl ausgewerteter Embryosäcke |
|--------------------------------|--------------------------------|---------------------------|-----------------------|--|
| vor Berührung der Polkerne | sämtliche Gametophytenkerne | 5,5 μ | 89 μ^3 | 8 |
| | Polkerne | 6,4 μ | 141 μ^3 | 31 |
| nach Berührung der Polkerne | restliche Gametophytenkerne | 5,0 μ | 68 μ^3 | 31 |
| | Durchschnitt | | 86 μ^3 | |

IV. Kreuzungsergebnisse

Um die Weitergabe der B-Chromosomen bei sexueller Fortpflanzung der *Anthurien* zu untersuchen, wurde eine Reihe von Kreuzungen durchgeführt. Als auffallendster Befund zeigte sich dabei zuerst das häufige Auftreten triploider Nachkommen bei gewissen Kreuzungen und die Inkonzanz der Chromosomenzahl innerhalb einer Wurzelspitze. Da diese Befunde für die Erklärung der weiteren Ergebnisse unentbehrlich sind, sollen sie hier zuerst besprochen werden.

1. Inkonzanz der Chromosomenzahlen im somatischen Gewebe

a) *Triploide*. Unter den Keimlingen der Artkreuzungen *A. crystallinum* \times *magnificum* und *A. crystallinum* \times *forgetii* fanden sich in größerer Anzahl spontan aufgetretene Triploide. Sie treten nicht in allen *crystallinum*-Kreuzungen gleich häufig auf; so fanden sich unter den Samen einer Pflanze in 2 Kreuzungen insgesamt 329 diploide und 43 (11,5%) triploide, in 3 Kreuzungen einer zweiten dagegen unter 229 nur 1 (0,4%) triploider Keimling. In verschiedenen Kreuzungen ein und derselben Pflanze pflegen sie hingegen in gleichen Prozentsätzen vorzukommen. Sie gehen ausschließlich auf das Verhalten der ♀ Kreuzungspartner zurück, da in anderen Kreuzungen mit denselben Pollenlieferanten keine Triploiden auftreten. Die triploiden Samen sind normal keimfähig, in 77% der Fälle jedoch kleiner und besitzen dann mit durchschnittlich 4 mg nur $\frac{1}{3}$ des Normalgewichtes der Samen mit diploiden Embryonen, das etwa 20 mg beträgt.

Bei dem Versuch, die Chromosomenzahlen dieser Triploiden zu bestimmen, zeigte sich eine erstaunliche Inkonzanz der Zahlen innerhalb einer Wurzelspitze. In Tabelle 5 sind 14 derartige Keimlinge aufgeführt,

Tabelle 5. Häufigkeit der verschiedenen Chromosomenzahlen in Keimwurzeln triploider Anthurien

| Pflanze | Chromosomenzahl | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------|-----------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|--|--|
| | 18 | 19 | 23 | 28 | 29 | 30 | 31 | 37 | 42 | 43 | 44 | 45 | 46 | 47 | 48 | 49 | 50 | | |
| 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | 20 | | |
| 2 | | | | | | | | | | | | | | | | 12 | | | |
| 3 | | | | | | 1 | | | | | | | | | 11 | | | | |
| 4 | | | | | | | | | | | | | | 4 | 6 | | | | |
| 5 | | | | | | | | | | | | | 2 | | | | 8 | | |
| 6 | | | | | | | | | | | | | | | | 4 | 6 | | |
| 7 | | | | | | | | | | | | | 2 | 8 | 1 | | | | |
| 8 | | | | | | | | | | | | | | | 3 | | | | |
| 9 | | 1 | | 1 | | | | | | | | 14 | 2 | | | | 17 | | |
| 10 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 11 | | | | | | | | | | 2 | 1 | | | | 1 | 9 | 1 | | |
| 12 | | | | | | | 1 | 1 | | 1 | | | 2 | 7 | 2 | 2 | | | |
| 13 | | | | | | | | | 1 | 1 | | | | 4 | 7 | | | | |
| 14 | 2 | | | | 1 | | | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 11 | 10 | 3 | | | | |

bei welchen mindestens 10 Metaphasen ausgezählt werden konnten. In nur 2 Pflanzen fanden sich keine Abweichungen unter 20 bzw. 12 ausgewerteten Zellen (Pflanze 1 bzw. 2). Im übrigen wurden bis zu 7 ver-

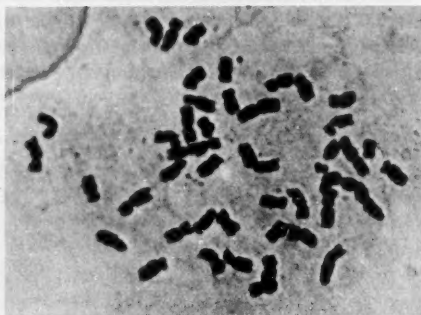


Abb. 10. *Anthurium crystallinum* \times *magnificum*. WS. $3n = 46$. 1000 \times

schiedene Zahlen innerhalb einer Keimwurzel gefunden (Pflanze 14). Abb. 10 zeigt den vollständigen Chromosomensatz einer Pflanze mit $3n = 46$ Chromosomen; Abb. 11 eine Zelle derselben Pflanze mit nurmehr 10 Chromosomen, Abb. 12 eine Zelle mit 18 Chromosomen von einer Pflanze, deren voll-

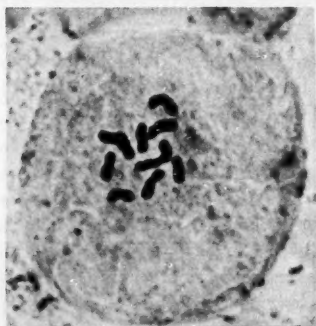


Abb. 11. Dieselbe Pflanze wie Abb. 10. Hypoploide WS-Zelle mit $3n = 10$. 1000 \times

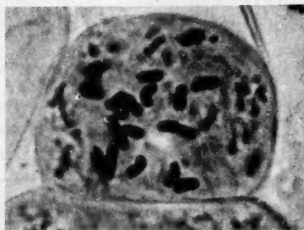


Abb. 12. *Anthurium crystallinum* \times *forgetii*. Hypoploide WS-Zelle mit $3n = 18$. 1000 \times

ständiger Chromosomenbestand 47 betrug. Wichtig ist, daß im Fall der 10-chromosomigen Zelle ein unvollständiges Genom, d.h. weniger als 15 Chromosomen, zur Durchführung einer Mitose befähigt ist.

Wie Tabelle 5 zu entnehmen ist, treten, bezogen auf die vermutlichen Chromosomenzahlen der Zygoten, welche der Anschaulichkeit

halber hervorgehoben sind, weit mehr Abweichungen mit verminderten als mit erhöhten Zahlen auf. Die meisten Zahlenangaben liegen zwischen $3n=42$ und 50.

Um einen vorläufigen Einblick in die weitere Entwicklung dergestalt gestörter Pflanzen zu gewinnen, wurden einige aufgezogen und Tabelle 6 gibt die nach 7 Monaten gefundenen Zahlenverhältnisse in 5–15 cm langen Adventivwurzeln wieder. Die Hauptzahlen der Keimwurzeln sind mit 46 bzw. 48 und 50 in allen 3 Pflanzen auch nach 7 Monaten noch deutlich erkennbar. Daneben finden sich wiederum vorwiegend verminderte Zahlen, nur bei Pflanze 1 treten in der ersten Wurzelspitze 2 Zellen mit um 1 erhöhter Chromosomenzahl auf. Beachtenswert ist, daß in verschiedenen Wurzeln ein und derselben Pflanze eine völlig verschiedene Störungshäufigkeit vorzukommen scheint, so sind z.B. in der ersten Wurzelspitze der Pflanze 1 sechs verschiedene Zahlen, in ihrer dritten Wurzelspitze nur einheitlich die Stammzahl 46 zu finden. Die Numerierung der Wurzelspitzen ist hierbei rein zufällig. Welche Zahlen in den Gonotokonten auftreten, muß bei der langsamen Entwicklung der Pflanzen späteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

Betrachtet man die am häufigsten auftretenden Zahlen als die ursprünglich in der Zygote vorhandenen — und der Vergleich der Chromosomenzahlen in Wurzelspitzen 7 Monate alter Pflanzen mit den Chromosomenzahlen der Keimwurzeln legt dies nahe (Tabelle 6) — so fällt bei den Triploiden auf, daß aus der Kreuzung einer Pflanze mit $2n=32$ und einer solchen mit 31 Chromosomen auch Keimlinge mit $3n=45$, 46, 49 und 50 Chromosomen entstehen können. Unter den nicht in Tabelle 5 aufgeführten Pflanzen, von welchen weniger als 10 Zählungen möglich waren, fanden sich als bevorzugte Zahlen ferner 51 und 53.

Tabelle 6. Häufigkeit der Zellen mit abweichenden Chromosomenzahlen in den Wurzelspitzen 7 Monate alter triploider Anthurien

| Pflanze | Chromosomenzahl der Keimwurzel | | Wurzelspitze | Chromosomenzahlen der Adventivwurzelspitzen nach 7 Monaten | | | | | | | | | | | | | | | | Anzahl der ausgewerteten Zellen |
|---------|--------------------------------|---------------------------------|--------------|--|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|---|----|--|---------------------------------|
| | 3n | Anzahl der ausgewerteten Zellen | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | 10 | 35 | 40 | 41 | 42 | 43 | 44 | 45 | 46 | 47 | 48 | 49 | 50 | | | | |
| 1 | 46 | 5 | 1 | 1 | 1 | | | | 1 | 1 | 5 | 1 | 2 | | | | | 12 | | |
| | | | 2 | | | | | | 1 | 1 | | 2 | | | | | 4 | | | |
| | | | 3 | | | | | | | | 7 | | | | | | 7 | | | |
| | | | 4 | | | | | 1 | | | 2 | | | | | | 3 | | | |
| 2 | 48 | 3 | 1 | | | | | | | | 2 | | 3 | | | | 5 | | | |
| | | | 2 | | | | | | | | | | 3 | | | | 3 | | | |
| 3 | 50 | 3 | 1 | | | | | | | | 1 | | 1 | | | 7 | 9 | | | |
| | | | 2 | | | | | | | | 1 | | 1 | | 2 | | 4 | | | |

Handelt es sich bei der Entstehung der Triploiden um die Verschmelzung eines reduzierten und eines unreduzierten Gameten, wie dies allgemein angenommen wird, so dürften in der vorliegenden Kreuzung nur Pflanzen mit $32 + 15 = 47$ oder $32 + 16 = 48$ Chromosomen entstehen. Da mit größter Wahrscheinlichkeit die z.B. sehr konstanten Zahlen der ersten, zweiten und dritten Pflanze in Tabelle 5 nicht durch eine somatische Aufregulierung entstanden sind, muß angenommen werden, daß in allen Samenanlagen von *Anthurium crystallinum* die Meiosis abläuft, wobei eine anschließende Kernverschmelzung oder Restitutionskernbildung zu einer diploiden Eizelle führt. Während dieser Reifungsteilung können, ähnlich dem besprochenen Vorgang in den Antheren, infolge des unregelmäßigen Verhaltens der B-Chromosomen, Gonon mit sehr verschiedenen Chromosomenzahlen entstehen. Je nachdem, welche Kerne anschließend zur diploiden Eizelle verschmelzen, können sehr unterschiedliche Chromosomenzahlen zustande kommen. Für diese Annahme einer vorausgehenden Reifungsteilung sprechen auch die über 80% normal diploiden Nachkommen, die in derartigen Kreuzungen auftreten.

b) *Diploide*. Vereinzelte Zellen mit abweichenden Chromosomenzahlen im Meristem diploider Keimwurzeln zeigten, daß die bei Triploiden so ausgeprägte Inkonzanz der Chromosomenzahl auch im somatischen Gewebe diploider Pflanzen auftritt. Um ihre Häufigkeit möglichst genau zu erfassen, wurden Keimwurzeln, Wurzelspitzen etwa 1 Jahr alter und Wurzelspitzen blühfähiger Pflanzen untersucht (Tabelle 7).

Keimpflanzen. Tabelle 7 gibt in der ersten Zeile die Verhältnisse für 20 diploide Pflanzen wieder, die derselben Kreuzung wie die Triploiden der Tabelle 5 entstammen. Unter 200 Zellen aus 20 verschiedenen Wurzelspitzen fanden sich vereinzelt 5 mit abweichenden Chromosomenzahlen, entsprechend einer Häufigkeit von ungefähr 2,5%.

Tabelle 7. Zellen mit abweichenden Chromosomenzahlen in den Wurzelspitzen diploider Anthurien

| | Anzahl der ausgewerteten WS | Anzahl der ausgewerteten Zellen | Anzahl der Zellen mit abweichender Chromosomenzahl |
|--|-----------------------------------|---------------------------------------|--|
| <i>Keimpflanzen</i> | | | |
| <i>A. crystallinum</i> 1 × <i>forgetii</i> | 20 | 200 | 5 (2,5%) |
| <i>A. crystallinum</i> 2 × <i>forgetii</i> | 20 | 200 | 5 (2,5%) |
| <i>A. magnificum</i> | 20 | 200 | 7 (3,5%) |
| <i>1 Jahr alte Pflanzen</i> | | | |
| <i>A. magnificum</i> | 20 | 200 | 10 (5,0%) |
| <i>Blühfähige Pflanzen</i> | | | |
| <i>A. magnificum</i> | 5 | 25 | 0 — |

Zwei weitere Kreuzungen wiesen etwa dieselben Prozentsätze an Abweichungen auf. Dies entspricht den für *Caladium bicolor* gemachten Angaben von SHARMA und DAS (1954) mit 2–3%. Abweichungen von der ursprünglichen Chromosomenzahl der Zygote sind also bei diploiden Pflanzen ungleich seltener als bei triploiden. Da sich die diploiden Nachkommen einer Kreuzung, aus der zu 11% auch Triploide hervorgingen, hierbei nicht von den Diploiden anderer Kreuzungen unterscheiden, müssen die Störungen der $3n$ -Pflanzen auf das Vorhandensein des zusätzlichen Chromosomensatzes zurückgehen. Ein Zusammenhang zwischen der jeweiligen Grundzahl von 30–33 Chromosomen und der Häufigkeit der Abweichungen konnte, bei dem hierfür allerdings nicht sehr umfangreichen Material, nicht festgestellt werden.

Ein Jahr alte Pflanzen. Bei etwa 1 Jahr alten Pflanzen fanden sich unter 200 Zellen aus 20 Wurzelspitzen 10 mit abweichenden Chromosomenzahlen, darunter 4 gleichzahlige allein in einer Wurzelspitze.

Blühfähige Pflanzen. Von einer mehrere Jahre alten *A. magnificum*-Pflanze mit 32 Chromosomen in der Meiosis wurden 5 Wurzelspitzen von 45–60 cm langen Adventivwurzeln untersucht. In jeweils 5 Zellen fand sich einheitlich die Zahl 32, was bedeutet, daß die Zahl der Abweichungen nicht häufig sein kann.

Aus diesen Befunden geht hervor, daß zwar auch in diploiden Pflanzen Chromosomenzahlabweichungen relativ häufig (etwa 3%) auftreten, kaum aber je die ursprüngliche Chromosomenzahl durch sie ersetzt wird. Unter 825 Zellen aus 85 verschiedenen Wurzelspitzen waren nur 4mal zwei oder mehr gleiche Abweicher in einer Wurzelspitze gefunden worden; dies ist nicht unwesentlich für die Zuverlässigkeit der folgenden Auswertungen.

2. Weitergabe der B-Chromosomen bei sexueller Fortpflanzung

Kreuzungen zwischen den wenigen zur Verfügung stehenden blühfähigen Pflanzen der *Anthurium*-Arten *magnificum*, *crystallinum* und *forgetii* (Tabelle 1) sollten Aufschluß über die Weitergabe der B-Chromosomen bei sexueller Fortpflanzung geben. Die interessierenden Arten blühten nun zwar einigermaßen gleichmäßig während des ganzen Jahres, trotzdem sind die Kombinationsmöglichkeiten für Kreuzungen durch die Tatsache sehr eingeschränkt, daß von den protogynen Infloreszenzen immer zwei im entsprechenden Stadium vorhanden sein müssen. Auf Grund dieser Schwierigkeiten waren nicht alle theoretisch wünschenswerten Kreuzungen durchführbar. War diese Voraussetzung jedoch erfüllt, so lassen sich auch Selbstungen zwischen 2 Infloreszenzen einer Pflanze realisieren. Selbstung durch Bestäubung der sehr spät aufblühenden untersten Blüten einer Infloreszenz mit Pollen der zuerst aufgeblühten mittleren Abschnitte ergaben dagegen keinen Samenansatz. Für die Artkreuzungen kommt als weiteres Hindernis hinzu, daß nicht alle Pflanzen einer Art sich gleich verhalten, d.h. daß einige in gleichen Kreuzungsschematas reichlich Samenansatz ergeben, während andere nur wenig Samen bilden. *A. crystallinum* bildet nur sehr selten überhaupt stäubende Pollen aus und in diesen Fällen erfolgte bei Bestäubung kein Samen-

Kreuzung 1: (30×31) ergibt, daß Pollen mit 15 und 16 Chromosomen gleich häufig zur Befruchtung der immer 15 Chromosomen enthaltenden Eizellen gelangen. Dies bestätigt die Untersuchung am normalen Ablauf der Meiosis, wonach das B-Univalent im ersten Teilungsschritt ungeteilt an einen der beiden Pole kommt und den zweiten Teilungsschritt normal durchführt. Die eine Pflanze mit 33 Chromosomen, die nicht erwartet wurde, dürfte auf anomale Univalententeilung während des ersten Teilungsschrittes zurückgehen.

Kreuzung 2: (30×32) ergibt dasselbe Bild für eine Pflanze mit 2 B-Chromosomen. Die Pollenklassen mit 15, 16 und 17 Chromosomen entstehen, entsprechend der Erwartung bei völlig zufälliger Verteilung der beiden B-Chromosomen in der frühen Anaphase I, im Verhältnis von 1:2:1. Sämtliche Eizellen enthielten wiederum 15 Chromosomen. Die beiden ersten Kreuzungen zeigen, daß eine erhöhte B-Chromosomenzahl durch eventuell gerichtetes non-disjunction während der Pollenmitose bei *Anthurium* nicht vorliegt.

Kreuzung 3: (31×30) zeigt, entgegen der Erwartung, daß Pflanzen mit 30 und 31 Chromosomen im Verhältnis 1:1 auftreten würden, ein eindeutiges Überwiegen der Klasse mit 31 Chromosomen. Daneben traten 7 Keimlinge mit 32 bzw. 33 Chromosomen auf, was theoretisch nicht vorherzusehen war, ferner noch eine triploide Pflanze mit 46 Chromosomen, die 1 B- besaß, also zur 31er Klasse gerechnet werden kann und eine zur 30er Klasse gehörende Tetraploide mit 60 Chromosomen. Die Abweichung von der Erwartung kann auf Grund eines χ^2 -Testes mit $P = 0,02$ als gesichert betrachtet werden.

Im Gegensatz zur reziproken Kreuzung 1 zeigt also Kreuzung 3 eine auffallende Tendenz zur Erhöhung der Chromosomenzahl, die während der weiblichen Gametophytenentwicklung stattfinden muß; der zugrunde liegende zytologische Vorgang ist unbekannt. In Frage käme sowohl ein unregelmäßig auftretendes, gerichtetes non-disjunction während der ersten Embryosackmitose, wie es für *Roggen* (MÜNTZING 1949) ermittelt wurde, als auch eine mit gewisser Häufigkeit eintretende Teilung des univalenten B-Chromosoms während des ersten Teilungsschrittes der Meiosis. Die weiteren Befunde lassen diese Erklärungen jedoch einigermaßen unwahrscheinlich erscheinen.

Tabelle 9 umfaßt 4 Kreuzungen zwischen verschiedenen *Anthurium magnificum*-Pflanzen mit 1 bzw. 2 B-Chromosomen.

Kreuzung 4: (31×31). Bei annähernd gleicher Häufigkeit von männlichen und weiblichen Gameten mit 15 bzw. 16 Chromosomen ist eine Klassenverteilung von 30:31:32 Chromosomen wie 1:2:1 zu erwarten. Abgesehen von 9% Pflanzen in der theoretisch nicht zu erwartenden Klasse mit 33 Chromosomen, entspricht der Befund den Erwartungen.

Kreuzung 5: (31×32). Eine Kreuzung zwischen 2 Pflanzen mit 31 bzw. 32 Chromosomen ergibt als Erwartung eine Verteilung der Klassen 30:31:32:33 wie 1:3:3:1 (12,5%:37,5%:37,5%:12,5%). Der Befund von Kreuzung 5 entspricht, abgesehen von 2% der Pflanzen mit 34 Chromosomen, annähernd dieser Erwartung (P 0,3—0,5). Auffallend ist hier die geringe Tendenz zur Erhöhung der Chromosomenzahlen, und bei Betrachtung der Differenzen zwischen Befund und Erwartung zeigt sich sogar ein schwaches Überwiegen der Klassen mit 30 und 31 Chromosomen, das sich jedoch nicht statistisch sichern läßt. Bei der hierzu reziproken Kreuzung 6 (32×31) läßt sich jedoch eine eindeutige Verschiebung der Klassenhäufigkeiten zu den höheren Chromosomenzahlen hin feststellen. Die angegebenen

Tabelle 9. *Anthurium magnificum*-Kreuzungen

| Kreuzung | Chromosomenzahlen | | | | | | Anzahl ausgewerteter Pflanzen | χ^2 -Test |
|-----------|-------------------|-------------|--------------|-------------|------------|-----------|-------------------------------|----------------|
| | 30 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | | |
| 4 31×31 | | | | | | | | |
| Befund | 18 27,7% | 28 43,1% | 13 20,0% | 6 9,2% | | | 65 | |
| Erwartung | 25,0% | 50,0% | 25,0% | | | | | P 0,7—0,5 |
| 5 31×32 | | | | | | | | |
| Befund | 15 15,8% | 40 42,1% | 28 29,5% | 10 10,5% | 2 2,1% | | 95 | |
| Erwartung | 12,5% | 37,5% | 37,5% | 12,5% | | | | P 0,5—0,3 |
| Differenz | +3,3% | +4,6% | -8,0% | -2,0% | +2,1% | | | |
| 6 32×31 | | | | | | | | |
| Befund | 30 9,9% | 97 32,5% | 107 35,6% | 52 17,3% | 12 3,9% | 3 0,9% | 301 | |
| Erwartung | 12,5% | 37,5% | 37,5% | 12,5% | | | | P 0,05—0,02 |
| Differenz | -2,6% | -5,0% | -1,9% | +4,8% | | | | |
| 7 32×32 | | | | | | | | |
| Befund | 15 10,2% | 36 24,5% | 55 37,4% | 31 21,1% | 7 4,8% | 3 2,0% | 147 | |
| Erwartung | 6,25% | 25,0% | 37,5% | 25,0% | 6,25% | | | P 0,3—0,2 |

Differenzen zwischen Befund und Erwartung zeigen ein eindeutiges Zurückbleiben der niedrigeren Klassen und ein zu starkes Auftreten der höchsten erwarteten sowie der beiden folgenden, theoretisch überhaupt nicht vorherzusehenden Klassen mit 34 und 35 Chromosomen. Gemäß einem χ^2 -Test liegt P zwischen 0,05 und 0,02. Die Abweichung kann somit als gesichert betrachtet werden.

Kreuzung 7 (32×32): Bei Selbstung der *A. magnificum*-Pflanze mit 2 B-Chromosomen sind Nachkommen mit 30:31:32:33:34 Chromosomen im Verhältnis von 1:4:6:4:1 (6,25%:25,0%:37,5%:25,0%:6,25%) zu erwarten, sofern die Gametenbildung dem geschilderten Normalablauf der Meiosis folgte. Die vorliegende Stichprobe entspricht dieser Erwartung, lediglich die 3 Pflanzen mit 35 Chromosomen deuten auf eine, auffallend schwache, Tendenz zur Erhöhung der Chromosomenzahl hin.

Tabelle 10 umfaßt 2 Kreuzungen, in welchen *A. crystallinum* als ♀ Partner verwandt wurde.

Tabelle 10. *Anthurium crystallinum*-Kreuzungen

| Kreuzung | Chromosomenzahlen | | | | | | Anzahl ausgewerteter Pflanzen | χ^2 -Test |
|-----------|-------------------|-------------|--------------|-------------|-----------|-----------|-------------------------------|----------------|
| | 30 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | | |
| 8 32×31 | | | | | | | | |
| Befund | 27 9,2% | 86 29,5% | 107 36,7% | 62 21,2% | 9 3,1% | 1 0,3% | 292 | |
| Erwartung | 12,5% | 37,5% | 37,5% | 12,5% | | | | P < 0,01 |
| Differenz | -3,3% | -8,0% | -0,8% | +9,7% | | | | |
| 9 32×32 | | | | | | | | |
| Befund | 4 7% | 8 15% | 21 39% | 15 28% | 5 9% | 1 2% | 54 | |
| Erwartung | 6,25% | 25,0% | 37,5% | 25,0% | 6,25% | | | P 0,9—0,8 |

Kreuzung 8 (32×31): faßt die diploiden Nachkommen aus 4 Kreuzungen des gleichen Schemas zusammen. Bei 15, 16 und 17 bzw. 15 und 16 Chromosomen enthaltenden Gameten sind $30:31:32:33$ wie $1:3:3:1$ ($12,5\%:37,5\%:37,5\%:12,5\%$) zu erwarten. Wie die Differenzen zwischen Befund und Erwartung zeigen und der χ^2 -Test bestätigt ($P < 0,01$), liegt ebenfalls eine eindeutige Verschiebung der Chromosomenzahlen zu den höheren Werten hin vor.

Kreuzung 9 (32×32): Der Befund stimmt mit der Erwartung von $1:4:6:4:1$ für die Klassen 30–34 völlig überein ($P 0,8–0,9$). Eine Tendenz zur Erhöhung der Chromosomenzahlen ist kaum feststellbar.

Tabelle 11 zeigt 2 Kreuzungen der Art *A. forgetii*.

Tabelle 11. *Anthurium forgetii*-Kreuzungen

| Kreuzung | Chromosomenzahlen | | | | Anzahl ausgewerteter Pflanzen | χ^2 -Test |
|--|-------------------|-------------|-------------|-----------|-------------------------------|----------------|
| | 30 | 31 | 32 | 33 | | |
| 10 30×31 (<i>magnificum</i> \times <i>forgetii</i>) Befund | 106 52,0% | 96 47,0% | 1 0,5% | 1 0,5% | 204 | |
| Erwartung | 50,0% | 50,0% | | | | $P 0,5–0,3$ |
| 11 31×31 Befund | 27 22,5% | 67 55,9% | 25 20,8% | 1 0,8% | 120 | |
| Erwartung | 25,0% | 50,0% | 25,0% | | | $P 0,5–0,3$ |

Kreuzung 10 (30×31) gibt die Verhältnisse für die Chromosomenzahlenverteilung im Pollen von *A. forgetii* wieder, da die als ♀ Partner verwendete *A. magnificum*-Pflanze kein B-Chromosom besaß. Das Ergebnis entspricht mit $52:47$ recht genau der Erwartung von $1:1$ für die Klassen 30 und 31. Die 2 Pflanzen mit 32 bzw. 33 Chromosomen dürften auf Univalentteilungen zurückgehen.

Kreuzung 11 (31×31) zeigt recht genau das erwartete Verhältnis von $1:2:1$ für die Klassen 30, 31 und 32 bei Kreuzung zweier *A. forgetii*-Pflanzen mit je einem B-Chromosom. Eine Verschiebung zu höheren Chromosomenzahlen hin liegt nicht vor, da 1 abweichende Pflanze mit 33 Chromosomen, mit nur 0,8% der Gesamtzahl, nicht wesentlich ist.

Zusammenfassend kann folgendes über die Weitergabe der B-Chromosomen bei sexueller Fortpflanzung der *Anthurien* gesagt werden.

Die Kreuzungsergebnisse entsprechen für den Pollen (Kreuzung 1, 2 und 10) genau dem beobachteten Ablauf der normalen Meiosis; die B-Chromosomen teilen sich während des ersten Teilungsschrittes nicht und werden rein zufällig an die beiden Pole verteilt. Während aller weiteren Entwicklungsschritte des ♂ Gametophyten unterscheiden sie sich in ihrem Verhalten nicht von den übrigen Chromosomen. Eine Erhöhung der Gesamtzahl der B-Chromosomen findet hierbei nicht statt. Das Verhalten der ♀ Kreuzungspartner erscheint wesentlich unübersichtlicher. In einer Reihe von Kreuzungen (Kreuzung 3, 6 und 8) liegt bei der Nachkommenschaft eine statistisch gesicherte

Abweichung der Chromosomenzahlen zu den höheren Werten hin vor. Auffallend ist, daß in allen diesen Fällen der ♀ Kreuzungspartner eine höhere Chromosomenzahl besaß als der ♂. In Kreuzungen, in welchen beide Partner dieselbe Chromosomenzahl aufwiesen (Kreuzung 4, 7, 9 und 11), zeigt sich eine derartige Tendenz zur Erhöhung der Chromosomenzahl nicht, und dasselbe trifft auf den einzigen Fall zu, in welchem der Pollenlieferant die höhere Zahl besaß (Kreuzung 5). Hier läßt sich unter den Nachkommen sogar ein, wenn auch leichtes, Überwiegen der Klassen mit den niedrigeren Chromosomenzahlen feststellen.

Diese sonderbaren Befunde dürften sich folgendermaßen erklären: Die eigenartigen Zahlenverhältnisse der triploiden Nachkommen von *A. crystallinum* (Tabelle 5) haben gezeigt, daß bei ihrer Entstehung diploide Eizellen vorgelegen haben müssen, die durch eine Verschmelzung oder Restitutionskernbildung nach Ablauf der Meiosis entstanden sind. Ohne eine derartige Annahme lassen sich die Chromosomenzahlen der Nachkommen nicht erklären. Nimmt man nun an, daß sich derartige diploide Eizellen auch gelegentlich ohne Befruchtung, bzw. bei ausschließlicher Befruchtung des Endospermkernes, pseudogam weiterzuentwickeln vermögen (fakultative Diplosporie), so müssen die Chromosomenzahlen derartig entstandener Nachkommen genauso erscheinen, als ob eine Befruchtung mit Pollen einer Pflanze der gleichen Chromosomenzahl stattgefunden hätte. In entsprechend angelegten Kreuzungen treten sie somit nicht durch eine Veränderung der Zahlenverhältnisse in Erscheinung. Werden jedoch z.B. die Narben einer Pflanze mit 32 Chromosomen mit Pollen einer solchen mit 31 Chromosomen bestäubt, so muß sich die Verteilung der Nachkommen auf die verschiedenen Chromosomenzahl-Klassen um so mehr nach oben verschieben, je größer der Anteil apomiktisch entstandener Pflanzen ist. Demgegenüber muß in der reziproken Kreuzung (Kreuzung 5), entsprechend dem dargelegten Gedankengang, durch den apomiktisch entstandenen Anteil der Nachkommen eine Verschiebung zugunsten der Klassen mit niedrigen Chromosomenzahlen eintreten. Tatsächlich ist dies, wenn auch in geringem Ausmaß, der Fall. Sicher ist, daß die Häufigkeit apomiktisch entstandener Nachkommen individuell verschieden ist, denn bei der einen *Anthurium magnificum*-Pflanze ohne B-Chromosomen scheint Apomixis praktisch überhaupt nicht vorzuliegen, da sonst auch in den Kreuzungen 1, 2 und 10 ein Überwiegen der Klassen mit niedrigerer Chromosomenzahl vorliegen müßte. Daß es sich um Pseudogamie handelt ist wahrscheinlich, da ohne künstliche Bestäubung ein Samenansatz nie eintrat; daß tatsächlich nur fakultative Apomixis vorliegen kann, zeigen die verschiedenen Nachkommenschaften ein und derselben Pflanze nach Bestäubung mit verschiedenerlei Pollen. Ähnliche Formen der Apomixis sind von verschiedenen Objekten bekannt (NYGREN 1954).

Daß neben den besprochenen Verschiebungen der Klassenhäufigkeit in allen Kreuzungen vereinzelt Pflanzen mit einer nicht erwarteten höheren Chromosomenzahl auftreten, dürfte nur auf Univalententeilungen von B- oder A-Chromosomen während des ersten Teilungsschrittes der Meiosis zurückgehen; zur Erklärung der gesamten Ergebnisse aber reicht diese Annahme nicht aus.

3. Auswirkungen der B-Chromosomen

Wieweit eventuell den B-Chromosomen bei *Anthurien* ein positiver oder negativer Selektionswert zukommt, sollen die folgenden Untersuchungen beleuchten. Ein spezifisches Verhalten der B-Chromosomen während der Gametophytenentwicklung wurde für eine Reihe von Objekten nachgewiesen (*Sorghum*/DARLINGTON und THOMAS 1941; *Zea mays*/RANDOLPH 1941, ROMAN 1947 und 1950; *Secale Festuca*, *Anthoxanthum*/MÜNTZING 1949 und 1954). Im Sporophyten zeigen sie dagegen erst in größerer Anzahl eine eindeutig schädigende Wirkung, in manchen Fällen in geringer Anzahl auch eine leichte Förderung (*Centaurea*/FRÖST 1954).

Samenreife. Bei *Anthurium* läßt sich zeigen, daß durch eine größere Anzahl an B-Chromosomen eine leichte Verzögerung der Samenreife hervorgerufen wird. In Tabelle 12 sind zwei der durchgeführten Kreuzungen nach diesem Gesichtspunkt analysiert. Im ersten Fall, bei Vorhandensein nur eines B-Chromosoms, bleibt das Verhältnis von 1:1 der Klassen mit 30 und 31 Chromosomen praktisch während der ganzen Ernte erhalten. Allerdings ist es bemerkenswert, daß die zwei einzigen Keimlinge mit nach oben abweichender Chromosomenzahl, erst am 11. Erntetag ausgereift waren.

Tabelle 12. Verzögerung der Samenreife durch drei oder mehr B-Chromosomen

| Kreuzung | Erntetag | Chromosomenzahlen | | | | | | Anzahl ausgewerteter Samen |
|----------|----------|-------------------|-------|-------|-------|------|------|----------------------------|
| | | 30 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | |
| 30×31 | 1. | 26 | 23 | | | | | 49 |
| | | 53% | 47% | | | | | |
| | 5. | 43 | 38 | | | | | 81 |
| | | 53% | 47% | | | | | |
| 31×31 | 11. | 18 | 22 | 1 | 1 | | | 42 |
| | | 43% | 52% | 2,5% | 2,5% | | | |
| 31×31 | 1./2. | 5 | 16 | 16 | 4 | 1 | | 42 |
| | | 11,9% | 38,1% | 38,1% | 9,5% | 2,4% | | |
| | 3./5. | 21 | 49 | 59 | 23 | 5 | 1 | 158 |
| | | 13,3% | 31,0% | 37,4% | 14,5% | 3,2% | 0,6% | |
| | 8. | 1 | 9 | 11 | 7 | 3 | | 31 |
| | | 3,2% | 29,0% | 35,5% | 22,6% | 9,7% | | |
| | 10. | 3 | 13 | 17 | 14 | 3 | | 50 |
| | | 6,0% | 26,0% | 34,0% | 28,0% | 6,0% | | |

Das zweite Beispiel mit einer größeren Anzahl an Klassen zeigt deutlich, daß der prozentuale Anteil der Keimlinge mit 30 Chromosomen vom 1.—10. Erntetag von 11,9% auf 6,0% absinkt. Ebenso zeigt die Klasse mit 31 Chromosomen eine kontinuierliche Abnahme von 38,1% auf 26,0%, für die Klassen mit 32 Chromosomen beträgt die Abnahme nur noch 4%, während für die Klassen mit 33 Chromosomen ein Anstieg von 9,5% auf 28,0% vorliegt. Ebenso steigt der Anteil der theoretisch nicht erwarteten 34-chromosomigen Keimlinge von 2,4% am 1. Erntetag auf 6,0% am 10. Tage an. Zu beachten ist dabei aber, daß es sich nur um eine Zunahme handelt, nicht also, daß diese Klassen in den ersten Tagen völlig fehlen würden.

Konkurrenzaussaaten. Um zu ermitteln, ob den B-Chromosomen irgendein Selektionswert während der Keimung und anschließenden Frühentwicklung der Anthurien-Pflänzchen zukommt, wurden sehr dichte Aussaaten in Töpfe mit *Sphagnum*-Moos vorgenommen und nach 79 bzw. 105 Tagen die noch meristematischen Wurzelspitzen fixiert. In den beiden in Tabelle 13 aufgeführten Fällen besaßen zu den genannten Zeitpunkten noch 23,4 bzw. 18,4% der Pflanzen meristematische Wurzelspitzen, während die übrigen rund 80% entweder zugrunde gegangen waren oder nur noch ausdifferenzierte Wurzelspitzen besaßen. Wie Tabelle 13 zu entnehmen ist, änderte sich die Zusammensetzung der 20% Restpflanzen im Fall 1 gegenüber der Kontrolle nicht. Bei einem eindeutigen Vorteil einer der beiden Klassen müßte die andere praktisch verschwunden sein. Dasselbe Resultat zeigt das zweite Beispiel, in welchem Klassen mit größerer B-Chromosomenzahl vorhanden sind. Auch hier hat sich die Zusammensetzung der 20% noch wachsenden Pflanzen nicht wesentlich gegenüber der Kontrolle verändert.

Tabelle 13. Konkurrenzsaaten von Anthurien mit verschiedener Anzahl B-Chromosomen

| Kreuzung | 30 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | Anzahl ausgewerteter Pflanzen |
|--|-------------|-------------|-------------|-------------|-----------|-----------|-------------------------------|
| <i>Anthurium magnificum</i> (30×31) Kontrolle | 50 51% | 47 49% | | 1 | | | 98 |
| Versuch | 19 53% | 17 47% | | | | | 36 (23,4%) |
| <i>Anthurium magnificum</i> (32×32) Kontrolle | 12 11,6% | 28 26,9% | 35 33,7% | 21 20,0% | 6 5,8% | 2 1,9% | 104 |
| Versuch | 3 7,0% | 8 18,6% | 20 46,5% | 10 23,3% | 1 2,3% | 1 2,3% | 43 (18,4%) |

3 B-Chromosomen bedeuten somit auf alle Fälle für eine Pflanze noch keinen Nachteil in einem derartigen Konkurrenzkampf.

Phänotypische Auswirkungen. An den vier zur Verfügung stehenden Pflanzen von *Anthurium magnificum* war auffallend, daß die für diese Art charakteristischen Leisten an den Infloreszenzstielen in der Reihe von 0—2 B-Chromosomen gleichsinnig zunahmen.

Ausgewertet wurden bei insgesamt 15 Infloreszenzen einheitlich die Region 30 cm unterhalb des Beginns der Spatha. Die Mittelwerte betrugen: Ohne B-Chromosom 5,7, mit einem 9,0 und mit 2 B-Chromosomen 9,3 Leisten. Ob dies auf einem Zufall der genetischen Kombination der A-Chromosomen oder tatsächlich auf eine phänotypische Auswirkung der B-Chromosomen zurückzuführen ist, kann erst bei der Blüte der F_1 -Pflanzen entschieden werden. Weitere eindeutige phänotypische Auswirkungen der B-Chromosomen konnten nicht festgestellt werden.

D. Diskussion

1. Inkonstanz der Chromosomenzahlen im somatischen Gewebe von Anthurien

Angaben über vereinzelte Zellen mit abweichenden Chromosomenzahlen im Gewebe zytologisch normaler Pflanzen sind schon lange in der Literatur bekannt. Eine eingehendere Untersuchung erfuhren die seltenen haploiden Zellen im Meristem diploider Pflanzen durch HUSKINS (1949) und seine Mitarbeiter unter dem Gesichtspunkt der Reduktionsmitosen. SHARMA und DAS (1954) und MOOKERJEA (1955) untersuchten *Araceen* mit Zellen abweichender Chromosomenzahl und -konstitution in Hinblick auf eine Veränderung des Erbgutes bei vorwiegend vegetativer Vermehrung.

Einige wenige Objekte zeigen nun aber das Phänomen der Inkonstanz der Chromosomenzahlen in einem solchen Ausmaß, daß eine eingehendere Untersuchung des Verlaufs und der Ursachen derartiger Vorgänge möglich wurde. Am bekanntesten sind die Arbeiten von THERMAN und TIMONEN (1951) über die vorwiegend hypoploiden Zellen im menschlichen Endometriumgewebe, denen die widersprechenden Angaben von SACHS (1954) gegenüberstehen. Arbeiten an pflanzlichen Objekten wurden an *Ribes nigrum* (VAARAMA 1949), *Oenotheren* (ZENKE 1949), *Triticinae* (SACHS 1952), *Hymenocallis* (SNOAD 1955) und der Volvocalen *Astrephomene* (CAVE and POOCK 1956) ausgeführt. In allen diesen Fällen handelt es sich um Schwankungen der Anzahl normaler Chromosomen von Zelle zu Zelle.

Von diesen Untersuchungen sind nachdrücklich diejenigen zu trennen, die sich mit Eliminationserscheinungen von akzessorischen oder B-Chromosomen im Soma einiger Pflanzen und Tiere befassen. JANAKI-AMMAL (1940) und DARLINGTON and THOMAS (1941) zeigten zuerst für die Graminee *Sorghum purpureo-sericeum* die erstaunliche Tatsache, daß B-Chromosomen im gesamten Soma einer Pflanze aus dem Kern

entfernt werden, während sie in der Keimbahn erhalten bleiben. Diese Differenzierung geht so weit, daß selbst in den Filamenten der Antheren die B-Chromosomen aus den normalen Zellkernen ausgeschieden sind. Ähnliche Vorgänge fanden sich dann auch bei einer diploiden *Poa alpina* (MÜNTZING 1946) und der Composite *Xanthisma texanum* (BERGER, MC MAHON and WITKUS 1955). Für *Poa alpina* ist bemerkenswert, daß es eine Wildform gibt, welche konstant 2 B-Chromosomen in ihrer Keimbahn aufweist, während diese im somatischen Gewebe verloren gehen (MÜNTZING und NYGREN 1955). Ähnliches trifft auch auf ein tierisches Objekt zu, die Turbellarie *Polycelis tenuis* (MELANDER 1950). Der Mechanismus, der dieser Elimination zugrunde liegt, ist das Zurückbleiben der B-Chromosomen in der Äquatorialplatte bei Trennung der Chromatiden in der mitotischen Anaphase. Anschließend wird ein Mikronucleus gebildet, der sich dann nicht mehr zu teilen vermag. In welchem Entwicklungsstadium diese Ausscheidung erfolgt, ist dabei für die einzelnen Objekte verschieden.

Die Chromosomenzahlschwankungen, wie sie in der vorliegenden Arbeit für *Anthurium magnificum* und *crystallinum* festgestellt wurden, haben nun nichts mit dem gleichzeitigen Vorhandensein von B-Chromosomen zu tun. Es handelt sich dabei um Schwankungen im Gehalt normaler Chromosomen von Zellkern zu Zellkern. Demgegenüber unwesentlich sind vereinzelt beobachtete Schwankungen in der Anzahl der B-Chromosomen im Wurzelspitzenmeristem einer Pflanze, wie sie bei den meisten B-Chromosomen besitzenden Organismen in seltenen Fällen und völlig unregelmäßig auftreten. Beachtenswert an den vorliegenden Befunden ist, daß sich die triploiden und diploiden Nachkommen derselben Kreuzung grundlegend im Ausmaß dieser Störungen unterscheiden, während die diploiden Pflanzen verschiedener Kreuzungen darin weitgehend miteinander übereinstimmen. Dies stellt die Untersuchungen in eine Reihe mit den Arbeiten an tetraploidem *Ribes nigrum* (VAARAMA 1949), aneuploiden *Oenotheren* (ZENKE 1949), *Triticinae*-Bastarden (SACHS 1952) und einer polyploiden *Hymenocallis*-Art (SNOAD 1955). In all diesen Fällen handelt es sich um offensichtlich sehr labile Chromosomensysteme polyploider oder aneuploider Organismen. Wichtig ist, daß diese Labilität aber auch in den diploiden Pflanzen nicht unerheblich ist, wenngleich sie kaum ausreicht, die ursprüngliche Chromosomenzahl zu verdrängen.

Die Befunde an 7 Monate alten triploiden Pflanzen legen den Gedanken nahe, daß sich diese Labilität im Sproß weit weniger als in den Wurzelspitzenmeristemen auswirkt. Eine ähnliche Begrenzung der Störungen auf eine bestimmte Entwicklungsphase fand sich auch für die *Triticinae*-Bastarde (SACHS 1952), bei welchen sie ausschließlich kurz vor der Meiosis auftreten sollen. Welche äußeren oder inneren

Faktoren diese Störungen auszulösen vermögen, ist nicht klar, doch ist es auffallend, daß nicht nur stabile Chromosomenkombinationen auftreten (*Anthurium* und *Triticinae*), sondern daß das Ausmaß der Störungen bei triploiden *Anthurien* in den verschiedenen Wurzelspitzen ein und derselben Pflanze sehr verschieden sein kann.

Als grundlegender Mechanismus der teilweise sehr erheblichen Abweichungen von der Chromosomenzahl der Zygote werden von VAARAMA (1949) und SNOAD (1955) Spindelstörungen angegeben. Eine Klärung der Vorgänge wurde im Fall der *Anthurien* noch nicht versucht. Sicher aber ist, daß Kernteilungen ohne Chromosomenteilungen vorliegen müssen, da bei Fehlverteilung der Chromatiden allein Zellkerne mit erhöhten Chromosomenzahlen in gleichem Ausmaß wie solche mit erniedrigten auftreten müssen. Es muß sich also um eine die Chromosomenzahl reduzierende anomale Mitose handeln, die demzufolge als Reduktionsmitose bezeichnet werden könnte.

Sehr erstaunlich ist die Tatsache, daß selbst Zellen mit weniger als dem haploiden Chromosomensatz der Ausgangsformen in einzelnen Fällen noch Mitosen durchzuführen vermögen (Abb. 11), (VAARAMA 1949). Es gibt hierfür drei verschiedene Erklärungsmöglichkeiten: Entweder man nimmt mit VAARAMA an, daß die ursprünglich für diploid gehaltene Grundzahl tatsächlich schon eine polyploide Stufe darstellt und in seltenen Fällen bei der Verminderung der Chromosomenzahl Kombinationen der unentbehrlichen Chromosomen zustande kommen, während die anderen Zellen absterben. Für diese Annahme spricht die Tatsache der zahlreichen abgestorbenen Zellen, die im Gewebe von *Ribes nigrum* zu finden sind. Eine zweite Möglichkeit besteht in einem Stofftransport zwischen benachbarten Zellen (THERMAN und TIMONEN 1951), wie der synchrone Ablauf der Meiosis in aneuploiden Gonotokonten von *Triticinae*-Bastarden (SACHS 1952) mindestens für diese Entwicklungsstufe ihn erfordert. In den übrigen somatischen Geweben dürfte ein ähnlicher Stofftransport auf dem Wege der Plasmodesmen wenigstens auf kurze Entfernungen hin möglich sein. Eine dritte Möglichkeit besteht in der Annahme, daß die vorhandene geringe Anzahl Chromosomen noch immer alle für die Funktion der jeweiligen Zelle notwendigen Gene in sich vereint. Soweit es sich um vorwiegend polygen bedingte Funktionen handelt, könnten diese eventuell noch mit einem kleinen Teil der ursprünglichen Chromosomen durchgeführt werden. Von wenigen Genen gesteuerte Vorgänge, wie z. B. die Mitose, können dann im Falle günstiger Kombination der Chromosomen entweder noch von der Zelle selbst ausgeführt werden, oder aber durch eine Stoffversorgung aus den unmittelbar benachbarten Zellen gewährleistet sein. Daß die Lebensfähigkeit derartiger hypoploider Zellen jedoch wesent-

lich hinter der zurückbleibt, die Kerne mit vollständigem Chromosomensatz besitzen, legt ihre geringe Anzahl nahe.

2. B-Chromosomen der Anthurien

Die Vielfalt der bisher bekannt gewordenen zusätzlichen Chromosomen (TISCHLER 1953) bringt es mit sich, daß noch immer keine Entscheidung darüber möglich ist, welche ihrer Eigenschaften als wesentlich für ihre Definition und damit eventuell auch namengebend sein sollen. Als vorläufige Bezeichnung der Chromosomengruppe haben sich weitgehend die beiden Namen der *akzessorischen* oder B-Chromosomen durchgesetzt, wobei letzterer den Vorteil der Kürze besitzt. Allerdings sollten dann nicht weitere Buchstaben für abgeänderte B-Chromosomentypen eingeführt werden.

Die beiden auffallendsten Eigenschaften der B-Chromosomen sind ihre weitgehende genische Wirkungslosigkeit und ihre schwankende Anzahl innerhalb einer Population. Alle anderen Merkmale wie Größe, Chromatinverteilung und Lage der Insertionsstelle sind völlig uneinheitlich. Die Abgrenzung der Chromosomengruppe ist dadurch sehr erschwert, daß sie von den Trisomen (*Narcissus*/FERNANDES 1939 und 1949; *Oenothera*/CLELAND 1951; *Clarkia*/LEWIS 1951) bis zu fast normalen Bivalenten (*Poa alpina*/MÜNTZING und NYGREN 1955; *Moose*/VAARAMA 1953) reichen.

Auch die Frage ihrer Herkunft wird in den einzelnen Fällen verschieden beantwortet. Einmal gibt es sehr alte und über weite Areale verstreute B-Chromosomen wie bei *Zea mays* (DARLINGTON und UPCOTT 1941), *Secale* (MÜNTZING 1954) und nun wohl auch *Anthurium*, andererseits sollen sie laufend neu entstehen können wie bei *Caltha palustris* (REESE 1955). Die meisten Autoren neigen dazu, daß es sich um Abkömmlinge von A-Chromosomen derselben Art handelt, während in einigen Fällen, insbesondere bei den *Moosen* (VAARAMA 1953) an einen gemeinsamen Ursprung für eine ganze Reihe von B-Chromosomen verschiedener Gattungen gedacht wird.

Zur Klärung dieser Frage können die B-Chromosomen der *Anthurien* einiges Neue beitragen. Interessant ist ihre unterschiedliche Länge im Plasma verschiedener Arten, wobei allerdings erst die Aufzucht neuer Generationen eine Entscheidung darüber erlauben wird, ob es sich um ein konstant bleibendes Merkmal handelt. Zumindest ist bei *Anthurien* das Vorkommen eines B-Chromosomentyps in mehreren nahe verwandten Arten nachgewiesen, der zudem auch im Ursprungsgebiet der *Anthurien* in Südamerika vorkommen dürfte.

Im Verlauf der Meiosis unterscheiden sich die B-Chromosomen der *Anthurien* von den normalen Chromosomen grundsätzlich dadurch, daß

sie sich auch bei gleichzeitigem Vorhandensein mehrerer Homologer trotz anfänglicher Paarung, wie Univalente verhalten, die sich während des ersten Teilungsschrittes normalerweise nicht teilen und auch nicht aus den Kernen eliminiert werden. Wesentlich ist dabei, daß aus diesem Verhalten eine Erhöhung ihrer Anzahl von Generation zu Generation nicht resultiert. Ein Mechanismus, der ihre Anzahl im Laufe der Pollenentwicklung erhöhen würde, wie er bei einer Reihe von Gramineen (*Secale*/MÜNTZING 1954; *Anthoxanthum*/ÖSTERGREN 1947; *Festuca*/BOSE-MARK 1954; *Zea mays*/ROMAN 1947 und 1950) vorliegt, ist nicht vorhanden.

Neu ist die für *Anthurien* aufgezeigte Kombination des gleichzeitigen Auftretens von B-Chromosomen und fakultativer Apomixis. Ob ein kausaler Zusammenhang zwischen B-Chromosomen und Apomixis besteht, läßt sich mit dem wenig umfangreichen Material (Tabelle 1), das zur Kreuzung verwandt werden konnte, nicht feststellen. Die Vorteile einer Apomixis, bei welcher die Meiosis völlig ausfällt, wären für die Erhaltung der B-Chromosomen in einer Population eindeutig: Pflanzen mit B-Chromosomen würden diese an ihre apomiktisch entstandenen Nachkommen in unveränderter Anzahl weitergeben und sie darüber hinaus noch durch Pollen und Eizellen verbreiten. Sie stellten dadurch eine dauernde Quelle für B-Chromosomen dar. Die hier vorliegende Form der Apomixis mit einer Kernverschmelzung im Anschluß an die Meiosis, ergibt nun aber in der Nachkommenschaft insgesamt keine Veränderung der Anzahl der B-Chromosomen. Sie stellt genetisch denselben Vorgang dar wie eine Selbstung, mit dem einzigen Unterschied, daß hier zwei ♀ Gonen statt eines ♀ und eines ♂ Gameten miteinander verschmelzen. Ob bei *Wildanthurien* auch noch andere Formen der Apomixis vorkommen, die eine Erhaltung der B-Chromosomen innerhalb der Population begünstigen würden, muß vorerst offenbleiben.

Die Armut an auffallend wirksamen Genen ermöglicht die zahlreichen abgeänderten Typen an B-Chromosomen, die von sehr vielen Objekten bekannt sind und ihre ungleiche Anzahl in den verschiedenen Individuen einer Population. Daß gewisse positive Auswirkungen doch vorliegen, ist für *Centaurea scabiosa* (FRÖST 1955) recht sicher und wird zudem für alle die Objekte vermutet, bei welchen sich keinerlei Mechanismus zur Erhöhung der B-Chromosomen nachweisen läßt, der ihrer allmählichen Elimination entgegenwirken könnte.

Über die Auswirkung der B-Chromosomen bei *Anthurien* kann gesagt werden, daß sie in Konkurrenzversuchen praktisch bedeutungslos sind. Zumindest beeinträchtigen drei von ihnen die Vitalität der Pflanze noch nicht. Verzögerungen einzelner Abläufe durch B-Chromosomen sind für eine ganze Reihe anderer Objekte ebenfalls bekannt, so der

Pollenmitose bei *Sorghum* (DARLINGTON und THOMAS 1941), *Anthoxanthum* (ÖSTERGREN 1947) und *Secale* (MÜNTZING 1949), sowie der Gesamtentwicklung bei *Polycelis* (MELANDER 1950). Bei *Anthurium* wurde nun eine leichte Verzögerung der Samenreife ermittelt. Über die phänotypische Auswirkung der B-Chromosomen auf die Anzahl der Leisten am Infloreszenzstiel von *A. magnificum* kann Endgültiges erst nach Aufzucht einer F_1 ausgesagt werden.

Zusammenfassung

1. Überzählige Chromosomen der *Anthurium*-Arten *magnificum*, *crystallinum* und *forgetii* erwiesen sich als B-Chromosomen eines einheitlichen Typs. Das Chromosom ist in der Mitose durch zwei gleichartige breite Einschnürungen gekennzeichnet und besitzt verschiedene Größe im Plasma der verschiedenen Arten.

2. Während der Meiosis paart sich das B-Chromosom nicht mit den A-Chromosomen. Infolge früher Trennung seiner Bilvalente wird es in allen Fällen als Univalent rein zufällig an die Pole verteilt ohne sich vorher geteilt zu haben.

3. Bei sexueller Fortpflanzung werden die B-Chromosomen der *Anthurien* sowohl im Pollen als auch im Embryosack weitergegeben. Eine Erhöhung ihrer Anzahl findet dabei nicht statt. Ebenso bewirkt auch die hier vorliegende fakultative Apomixis mit Restitutionskernbildung nach Ablauf der Meiosis und gleichzeitige Ausbildung fertilen Pollens keine Erhöhung der Gesamtzahl der B-Chromosomen in der Population.

4. In Konkurrenzversuchen zeigen bis zu 3 B-Chromosomen keine Auswirkungen, jedoch liegt eine leichte Verzögerung der Samenreife durch mehrere B-Chromosomen vor. Die Möglichkeit einer phänotypischen Auswirkung bei *A. magnificum* wird angedeutet.

5. Bei Kreuzungen der verschiedenen *Anthurium*-Arten mit *A. crystallinum* als weiblichem Partner entstanden spontan Triploide. Ihre individuell verschiedenen Chromosomenzahlen zeigen, daß die diploiden Eizellen durch Verschmelzung zweier, aus der Meiosis hervorgegangener Gonen entstanden sein müssen.

6. In den Wurzelspitzen der Triploiden fanden sich starke Schwankungen der Chromosomenzahl, die vorwiegend zu hypoploiden Zellen führen. Dieselben Schwankungen fanden sich in sehr viel geringerem Ausmaß auch in den Wurzelspitzen diploider Pflanzen. Dieses kennzeichnet zumindest das stark vermehrte Auftreten der Störung als eine Folge des in Triploiden gestörten Gleichgewichtes der Genome.

7. Im achternukleären Embryosack von *A. magnificum* findet eine physiologische Differenzierung zwischen den beiden Polkernen und den

übrigen Gametophytenkernen dergestalt statt, daß die beiden Polkerne die erst gleichmäßig verteilte Produktion der Nukleolarsubstanz weitgehend übernehmen.

Literatur

- BERGER, C. A., R. M. Mc MAHON and E. R. WITKUS: The cytology of *Xanthisma texanum* D. C. III. Differential somatic reduction. Bull. Torrey Bot. Club **82**, 377—382 (1955). — ROSEMARK, N. O.: On accessory chromosomes in *Festuca pratensis*. I. Cytological investigations. Hereditas (Lund) **40**, 346—376 (1954). — CAVE, M. S., and M. A. POOCK: The variable chromosome number in *Astrephomene gubernaculifera*. Amer. J. Bot. **43**, 122—134 (1956). — CLELAND, R. E.: Extra, diminutive chromosomes in *Oenothera*. Evolution **5**, 166—176 (1951). — DARLINGTON, C. D., and P. T. THOMAS: Morbid mitosis and the activity of inert chromosomes in *Sorghum*. Proc. Roy. Soc. Lond., Ser. B **130**, 127—150 (1941). — Polyploidy, crossing-over and heterochromatin in *Paris*. Ann. of Bot., N. S. **5**, 203—216 (1941). — DARLINGTON, C. D., and M. B. UPCOTT: The activity of inert chromosomes in *Zea mays*. J. Genetics **41**, 275—296 (1941). — FERNANDES, A.: Sur le comportement d'un chromosome surnuméraire pendant la mitose. Scientia Genetica **1**, 141—166 (1939). — Le problème de l'hétérochromatination chez *Narcissus bulbocodium* L. Bol. Soc. Brot. **23**, 4—88 (1949). — FRÖST, S.: The genetic effect of accessory chromosomes in *Centaurea scabiosa*. Hereditas (Lund) **40**, 529—533 (1954). — HUSKINS, C. L.: The nucleus in development and differentiation and experimental induction of „Meiosis“. Hereditas (Lund) Suppl. **1949**, 274—285. — JANAKI-AMMAL, E. K.: Chromosome diminution in a plant. Nature (Lond.) **146**, 839—840 (1940). — KISCH, R.: Die Bedeutung der Wasserversorgung für den Ablauf der Meiosis. Jb. wiss. Bot. **85**, 450—484 (1937). — LEWIS, H.: The origin of supernumerary chromosomes in natural populations of *Clarkia elegans*. Evolution **5**, 142—157 (1951). — MELANDER, Y.: Accessory chromosomes in animals especially in *Polycelis tenuis*. Hereditas (Lund) **36**, 19—38 (1950). — MOOKERJEE, A.: Cytology of different species of *Aroids* with a view to a trace the basis of their evolution. Caryologia (Pisa) **7**, 221—291 (1955). — MÜNTZING, A.: Different chromosome numbers in root tips and pollen mother cells in a sexual strain of *Poa alpina*. Hereditas (Lund) **32**, 127—129 (1946). — Accessory chromosomes in *Secale* and *Poa*. Hereditas (Lund) Suppl. **1949**, 402 bis 411. — Cyto-genetics of accessory chromosomes (B-chromosomes). Proc. 9th Int. Congr. Genet. Caryologia (Pisa) **6**, 282—301 (1954). — MÜNTZING, A., and A. NYGREN: A new diploid variety of *Poa alpina* with two accessory chromosomes at meiosis. Hereditas (Lund) **41**, 405—422 (1955). — NYGREN, A.: Apomixis in the angiosperms II. Bot. Review **20**, 577—649 (1954). — OEHLKERS, F.: Neue Versuche über cytologisch-genetische Probleme (Physiologie der Meiosis). Biol. Zbl. **57**, 126—149 (1937). — ÖSTERGREN, G.: Heterochromatic B-chromosomes in *Anthoxanthum*. Hereditas (Lund) **33**, 261—296 (1947). — PFITZER, P.: Chromosomenzahlen von *Araceen*. Chromosoma (im Druck). — RANDOLPH, L. F.: Genetic characteristics of the B-chromosomes in *maize*. Genetics **26**, 608—631 (1941). — REESE, G.: Euploidie, Aneuploidie und B-Chromosomen bei *Caltha palustris* L. Planta (Berl.) **44**, 203—268 (1954). — ROMAN, H.: Mitotic nondisjunction in the case of interchanges involving the B-type chromosome in *maize*. Genetics **32**, 391—409 (1947). — Factors affecting mitotic nondisjunction in *maize*. Genetics **35**, 132 (1950). — SACHS, L.: Chromosome mosaics in experimental amphiploids in the *Triticinae*. Heredity (Lond.) **6**, 157—170 (1952). — The chromosome constancy of the normal mammalian uterus. Heredity (Lond.) **6**, 117—124

(1954). — SHARMA, A. K., and N. K. Das: Studies of karyotypes and their alterations in *aroids*. Agron. Lusit. 16, 23—48 (1954). — SNOAD, B.: Somatic instability of chromosome number in *Hymenocallis calathinum*. Heredity (Lond.) 9, 129—134 (1955). — STICH, H.: Stoffe und Strömungen in der Spindel von *Cyclops strenuus*. Ein Beitrag zur Mechanik der Mitose. Chromosoma 6, 199—236 (1954). — THERMAN, E., and S. TIMONEN: Inconstancy of human somatic chromosome complement. Hereditas (Lund) 37, 266—279 (1951). — TISCHLER, G.: Angewandte Pflanzenkaryologie. Berlin 1953. — VAARAMA, A.: Spindle abnormalities and variation in chromosome number in *Ribes nigrum*. Hereditas (Lund) 35, 136—162 (1949). — Chromosome fragmentation and accessory chromosomes in *Orthotrichum tenellum*. Hereditas (Lund) 39, 305—316 (1953). — ZENKE, U.: Untersuchungen an aneuploiden Nachkommen von *Oenothera franciscana* de Vries. Diss. Freiburg 1949.

Dr. PETER PFITZER, Stuttgart-Fellbach, Teschenstraße 53

